Einfluß verschiedener Salbengrundlagen auf die Wirksamkeit von Nicotinsäurebenzylester in Lösungssalben

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Andreas Teubner

aus Coburg

Düsseldorf 1980

Einfluß verschiedener Salbengrundlagen auf die Wirksamkeit von Nicotinsäurebenzylester in Lösungssalben

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Andreas Teubner
aus Coburg

Düsseldorf 1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1. Berichterstatter: Professor Dr. B.C. Lippold

2. Berichterstatter: Professor Dr. G. Goerz

Tag der mündlichen Prüfung : 4.7.1980

Die vorliegende Arbeit wurde in der pharmazeutisch-technologischen Abteilung des Institutes für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München sowie am Institut für Pharmazeutische Technologie der Universität Düsseldorf durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. Bernhard C. Lippold,unter dessen Anleitung diese Arbeit entstand, danke ich herzlich für die vielfältige Förderung und jederzeit großzügig gewährte Unterstützung meiner Untersuchungen.

Mein Dank gilt weiterhin allen Probanden sowie allen Mitarbeitern der Institute in München und Düsseldorf, die durch ihre Mithilfe zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543910_0004

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A	EINFÜHRUNG	1
B	ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN	3
I.	Eingesetzte Salbengrundlagen	3
II.	Untersuchungen zur Wirksamkeit	8
1.	Bioverfügbarkeit bzw. Wirksamkeit von Arzneistoffen aus verschiedenen Zubereitungen	8
1.1	Bestimmung der Bioverfügbarkeit über die Wirksamkeit: Entwicklung allgemeiner Aspekte	8
1.2	Wirkungsintensitätsbezogene Bioverfügbarkeit	10
1.2.1	Bioverfügbarkeitsvergleich auf gleichem Wirkungsniveau	12
1.2.2	Bioverfügbarkeitsvergleich über die Wirkungsdifferenz bei gleicher Dosis	13
1.3	Wirkungsdauerbezogene Bioverfügbarkeit	15
1.4	Wirkungsintensität- und dauerbezogene Bioverfügbarkeit	15
2.	Anwendung auf topische, lokal wirkende Zubereitungen	16
2.1	Allgemeine Gesichtspunkte bei der Arzneistoffaufnahme durch die Haut	16
2.2	Wirksamkeitsparameter für die Nicotinsäurebenzylestersalben	21
2.2.1	Pharmakologische Wirkung des Nicotinsäurebenzylesters	21
2.2.2	Auswahl der Wirksamkeitsparameter	22
3.	Wirksamkeitsmessungen als Kriterium der Bioverfügbarkeit und Bewertung der Parameter	23
3.1	Intensitätsbezogene Parameter	24

		Seite
3.2	Dauer- bzw. zeitbezogene Parameter	30
3.3	Intensitäts/dauerbezogene Parameter	44
3.4	Inter- und intraindividuelle Unterschiede	49
4.	Wirkungsvergleich über die gesamte Konzentrations-Wirkungs-Kurve	54
4.1	Alle Meßparameter, 5 Probanden	54
4.2	Meßparameter reziproker Wert der Latenzzeit und Dauer der Rötung, 5-20 Versuchspersonen	90
5.	Einzelmessungen	100
5.1	2-Punkt-Test	100
5.2	1-Punkt-Test	113
6.	Zusammenfassung In-vivo-Versuche	125
III.	Physikalisch-chemische Charakterisierung der Salben	128
1.	Verhalten der Salbengrundlagen auf der Haut	128
1.1	Spreitung	129
1.2	Abweisungsrate	137
2.	Einfluß der Salbengrundlagen auf Löslichkeit und Verteilungsverhalten von Nicotinsäurebenzylester	142
2.1	Bedeutung von Löslichkeit und Verteilungsverhalten für die Penetration	142
2.2	Sättigungslöslichkeiten in den Salbengrundlagen bzw. deren flüssigen Bestandteilen	144
2.3	Verteilungsverhalten zwischen Keratin und flüssigen Salbenbestandteilen	145
2.4	Beziehung zwischen Löslichkeit und Verteilungsverhalten	149
3.	Freisetzung des Nicotinsäurebenzylesters in vitro	151

		Seite
3.1	Freigabekinetik	151
3.2	Untersuchungsbedingungen	153
3.3	Ergebnisse der Freisetzungsuntersuchungen	155
3.4	Diskussion des Freisetzungsverhaltens	167
IV.	Zusammenhänge zwischen unterschiedlicher Wirksamkeit nicotinsäurebenzylesterhaltiger Lösungssalben und ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften (In-vitro/In-vivo-Korrelation)	172
C	EXPERIMENTELLER TEIL	179
I.	Wirksamkeitsuntersuchungen	179
1.	Versuchsbedingungen und Auswertung	179
1.1	Probanden	179
1.2	Meßvorgang	179
1.2.1	Parameter der Hautrötung	181
1.2.2	Parameter der Temperaturerhöhung	186
2.	Versuchsreihen	190
2.1	Wirksamkeitsvergleich über die gesamte Konzentrations-Wirkungs-Kurve	190
2.1.1	Konzentrationsreihen mit allen Meßparametern	190
2.1.2	Bestimmung der ED_{50}	203
2.1.3	Konzentrationsreihen mit den Meßparametern $1/t_R$ und D_R	210
2.2	Wirksamkeitsvergleich mit 1 bzw. 2 Konzentrationen	210
2.2.1	2-Punkt-Test	210
2.2.2	1-Punkt-Test	218
2.2.3	1-Punkt-Test unter Okklusivbedingungen	218

		Seite
II.	Verfahren zur Charakterisierung der Salben	228
1.	In-vitro-Methoden	228
1.1	Bestimmung der physikalischen Eigenschaften der Grundlagen	228
1.1.1	Tropfpunkt und Erstarrungspunkt	228
1.1.2	Grenzflächenverhalten	228
1.1.3	Rheologisches Verhalten	232
1.1.4	Blutungszahl	235
1.2	Sättigungslöslichkeiten	235
1.3	Experimenteller Verteilungskoeffizient Keratin/ Vehikel	236
1.3.1	Keratin	236
1.3.2	Versuchsdurchführung	236
1.4	Freisetzung von Nicotinsäurebenzylester	239
1.4.1	Freigabeapparaturen, Versuchsaufbau	239
1.4.2	Salben-Liberationszelle	239
1.4.3	Versuchsablauf	241
1.4.4	Auswahl der Akzeptormedien	243
1.4.5	Vorbereitung der Salben	245
1.4.6	Membranen	246
2.	In-vivo-Methoden	247
2.1	Spreitung	247
2.2	Abweisungsrate	248
III.	Herstellungsverfahren und Hilfsstoffe	250
1.	Herstellungsverfahren	250
2.	Hilfsstoffe	252
D	ZUSAMMENFASSUNG	253
E	LITERATURVERZEICHNIS	260

A EINFÜHRUNG

Bei Anwendung von Salben mit beabsichtigter lokaler Wirkung (Epidermis, Corium bzw. tiefere Gewebe) oder angestrebtem systemischen Effekt (40, 45, 64) muß der Arzneistoff zunächst aus der Salbe freigegeben werden und anschließend das Stratum corneum, die Barriere für die Penetration, passieren. Bei Einsatz verschiedener Vehikel für ein und denselben Arzneistoff ist zu erwarten, daß sich diese auf die Wirksamkeit bzw. Bioverfügbarkeit auswirken.

Für vehikelbedingte Wirksamkeitsunterschiede können eine Reihe von Einflußfaktoren von Bedeutung sein. Dies sind im wesentlichen die Freisetzung des Arzneistoffes aus der Salbe, das Verteilungsverhalten des Wirkstoffes zwischen Stratum corneum und Grundlage sowie dessen Löslichkeit im Vehikel (43,44,68, 70,71). Zusätzlich sind Grundlageneffekte auf der Haut zu berücksichtigen (83,91).

Die einzelnen Parameter, von denen vor allem die Freisetzung Gegenstand zahlreicher Untersuchungen ist, werden bezüglich ihrer Bedeutung für die Wirksamkeit von Salben unterschiedlich bewertet (3,8,15,52,99).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es herauszufinden, welche der genannten Einflußfaktoren für die Bioverfügbarkeit von Wirkstoffen aus verschiedenen Zubereitungen wesentlich sind. Ihre Berücksichtigung sollte Voraussagen über die zu erwartende Wirksamkeit und damit eine gezielte Entwicklung bzw. Optimierung topischer Zubereitungen erlauben.

Die Bewertung der Einflußfaktoren kann nur über eine Korrelation gesonderter physikalisch-chemischer In-vitro-Untersuchungen mit der in vivo gemessenen Bioverfügbarkeit erfolgen. Zur Bestimmung der Bioverfügbarkeit läßt sich bei einer Reihe lokal angewandter Wirkstoffe der pharmakodynamische Effekt heranziehen, so z.B. bei Corticosteroiden, hyperämisierenden Stoffen, Lokalanaesthetika, Fungistatika und Antihistaminika (7,10,32,36,59,69,101).

Für die vorliegenden Untersuchungen wird Nicotinsäurebenzylester als Arzneistoff ausgewählt. Am Beispiel entsprechender Lösungssalben sind dabei quantitative Parameter zu entwickeln, die zur Beurteilung der Bioverfügbarkeit verschiedener Zubereitungen mit gleichem Arzneistoff herangezogen werden können. Als Vehikel finden typische und gebräuchliche Vertreter aus der Gruppe der lipophilen Gele, Absorptionsgrundlagen, Emulsionsgrundlagen, Hydrogele und hydrophilen Gele Berücksichtigung.

B ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN

I. Eingesetzte Salbengrundlagen

Salben sind nach DAB 8 streichfähige Zubereitungen, die zur Anwendung durch Auftragen oder Einreiben bestimmt sind, Creme ist eine Bezeichnung für wasserhaltige Salben. Das DAB 8 enthält jedoch keine Einteilung nach therapeutischen oder pharmazeutisch-technologischen Gesichtspunkten. Die nachfolgende systematische Gliederung orientiert sich am Gel-Charakter der Salben. Münzel hat Salben als plastische Gele bezeichnet (65), sie lassen sich in folgende Hauptgruppen unterteilen: Lipophile Gele, Absorptionsgrundlagen, Emulsionsgrundlagen (W/O, O/W), transparente Emulsionsgele (Mikroemulsionen), Hydrogele, hydrophile Gele. Darüber hinaus unterscheidet man je nach Art der Verteilung des Arzneistoffes in der Salbengrundlage Lösungssalben und Suspensionssalben. Die vorliegende Untersuchung beschränkt sich auf Lösungssalben, es finden Salben aus allen aufgeführten Grundlagengruppen Anwendung (Tab. 1). Dabei werden sowohl die wichtigsten DAB 8-Grundlagen als auch die auf dem Markt sehr verbreiteten, transparenten Gele in die Untersuchung einbezogen.

Tab. 1 : Systematische Einteilung der untersuchten Grundlagen

Lipophile Gele	Vaselin DAB 8	(VAS)
	Polysynlansalbe	(PS)
	Wachssalbe	(KS)
Absorptionsgrundlagen [+)]	Wollwachsalkoholsalbe DAB 8	(ALK)
	hydrophile Salbe DAB 8	(HS)
Emulsionsgrundlagen	wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe DAB 8	(WALK)
	wasserhaltige hydrophile Salbe DAB 8	(WHS)
Mikroemulsion	Mikroemulsion APV	(ME)
Hydrogele	Polyacrylatgel [++)]	(PA)
Hydrophile Gele	Polyethylenglykolsalbe	(PEG)
	Polyethylenglykolsalbe wasserhaltig	(PEGW)

[+)] Absorptionsgrundlagen sind wasserfreie emulgatorhaltige lipophile Gele.

[++)] Basisgel von Salhumin Gel [R] (SALHU).

Tab. 2 : Zusammensetzung der Grundlagen [+)]

Weißes Vaselin DAB 8

Nach DAB 8 ein Gemisch gereinigter, gebleichter, gesättigter Kohlenwasserstoffe ca. 70-80% flüssige Bestandteile.

Polysynlan-Salbe

Polyethylen 30 000	5,0%
Isoparaffin	95,0%
(Polymeres Isobutan, $C_{24}H_{50}$)	

Wachssalbe

Gelbes Wachs	8,72%
Walrat	10,74%
Erdnußöl	80,54%

Die Zusammensetzung entspricht in etwa der lipophilen Phase der Kühlsalbe DAB 8.

Wollwachsalkoholsalbe DAB 8

Wollwachsalkohole	6,0%
Cetylstearylalkohol	0,5%
Weißes Vaselin	93,5%

Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe DAB 8

Wollwachsalkoholsalbe	50,0%
Wasser	50,0%

[+)] Herstellerverzeichnis siehe experimenteller Teil Tab. 69

Hydrophile Salbe DAB 8

Emulgierender Cetylstearylalkohol +)	30,0%
Dickflüssiges Paraffin	35,0%
Weißes Vaselin	35,0%

Wasserhaltige hydrophile Salbe DAB 8

Hydrophile Salbe	30,0%
Wasser	70,0%

Mikroemulsion APV

Ethoxilierter Cetylstearylalkohol (ca. 30 Mol Ethylenoxid)	12,0%
Ethoxilierter Glycerinfettsäure-partialester	20,0%
Isopropylmyristat	5,0%
Wasser	63,0%

Polyacrylatgel

Polyacrylsäure	2,4%
Diisopropanolamin	0,06%
Propylenglykol	8,0%
Isopropanol	43,07%
Wasser	46,47%

Salhumin Basis-Gel hat die gleiche Zusammensetzung wie Polyacrylatgel.

+) Emulgierender Cetylstearylalkohol

Cetylstearylalkohol	90%
Cetylstearylschwefelsaures Natrium	10%

Salhumin Gel R

Ethylenglykolmonosalicylsäureester	5,0%
Nicotinsäurebenzylester	1,0%
Campher	0,5%
Huminsäuren	0,8%
Salicylsäure	0,2%
Basisgel (Polyacrylatgel)	92,5%

Polyethylenglykolsalbe

Polyethylenglykol 4000	47,5%
Polyethylenglykol 400	47,5%
Cetylalkohol	5,0%

Polyethylenglykolsalbe wasserhaltig

Polyethylenglykolsalbe	90,0%
Wasser	10,0%

Tab. 3 : Tropfpunkte und Erstarrungspunkte am rotierenden Thermometer der verwendeten Grundlagen

Grundlage	Tropfpunkte	Erstarrungspunkte
VAS	53,3	52,5
PS	86,0	84,0
KS	44,5	43,0
ALK	48,0	48,5
HS	66,0	62,0
WALK	84,5	66,5
WHS	70,5	68,5
ME	31,5	29,5
PA +)	-	-
PEG	51,0	48,0
PEGW	47,5	47,0

+) Für Hydrogele ist die Bestimmung nicht durchführbar

II. Untersuchungen zur Wirksamkeit

1. Bioverfügbarkeit bzw. Wirksamkeit von Arzneistoffen aus verschiedenen Zubereitungen

1.1 Bestimmung der Bioverfügbarkeit über die Wirksamkeit: Entwicklung allgemeiner Aspekte

Bioverfügbarkeit bezeichnet die Geschwindigkeit und das Ausmaß, womit der therapeutisch wirksame Anteil eines Arzneimittels freigesetzt, resorbiert und am Wirkort verfügbar wird. Sie läßt sich im allgemeinen durch Messung des zeitlichen Verlaufes der Konzentrationen in den Körperflüssigkeiten bzw. der Ausscheidung oder des akuten pharmakologischen Effektes bestimmen.

Absolute Konzentrationsmessungen sind für die biopharmazeutische Qualitätsbeurteilung von Arzneiformen wenig aussagekräftig, man verabreicht daher Test- und Standardzubereitungen. Um interindividuelle Variationen soweit als möglich zu eliminieren, appliziert man diese den gleichen Probanden, so daß Unterschiede den Einfluß der Arzneiform widerspiegeln. Über den Vergleich der Flächen unter den Konzentrations-Zeit-Kurven erhält man die relative Bioverfügbarkeit, den Parameter für das Ausmaß der Bioverfügbarkeit der Testzubereitungen im Vergleich zum Standard.

$$\text{Relatives Ausmaß der Bioverfügbarkeit} = \frac{\text{verfügbare Menge aus der Testzubereitung}}{\text{verfügbare Menge aus der Standardzubereitung}} \qquad \text{(Gl. 1)}$$

Das Verhältnis der verfügbaren Mengen an Arzneistoff erlaubt jedoch noch keine Aussage über die Wirksamkeit. So ist es durch-

aus möglich, daß zwei verschiedene Arzneiformen mit gleichem relativen Ausmaß der Bioverfügbarkeit völlig unterschiedliche Wirkungen aufweisen. Ein entsprechendes Beispiel zeigt Abb. 1. Bei gleichem Ausmaß der relativen Bioverfügbarkeit ergeben sich für Kurve 1 und 2 unterschiedliche Wirkungen mit der Intensität I bzw. I' und mit der Dauer D bzw. D', während bei Kurve 3 kein Effekt resultiert. Es ist daher bei einmaliger Applikation auch die Geschwindigkeit der Resorption zu berücksichtigen, charakterisiert z.B. durch Resorptionsgeschwindigkeitskonstante oder Zeit bis zum Konzentrationsmaximum.

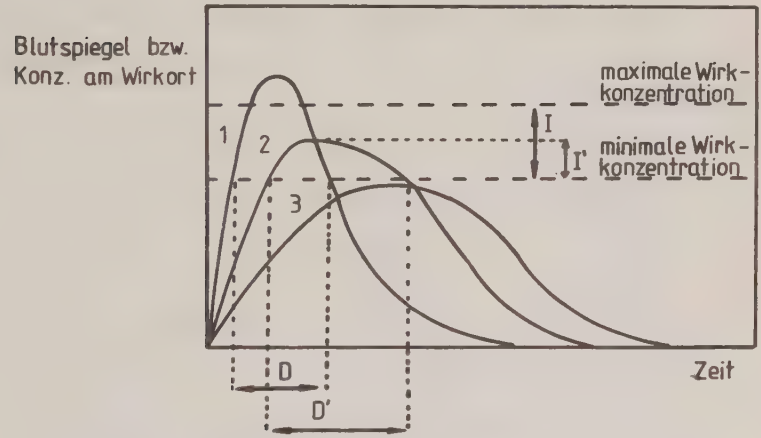


Abb. 1: Vergleich dreier Blutspiegel- bzw. Konzentrations-Zeit-Kurven bei gleichem relativen Ausmaß der Bioverfügbarkeit

I = Intensität, D = Dauer der Wirkung

Messungen von Intensität und Dauer eines pharmakologischen Effektes dagegen beinhalten sowohl Ausmaß wie auch Geschwindigkeit der Resorption. Sie gestatten daher eine unmittelbare Beurteilung unterschiedlicher Arzneiformen. Allerdings ist dabei zu berücksichtigen, daß Intensität und Dauer pharmakologischer Wirkungen im allgemeinen nicht linear von der verfügbaren Arzneistoffmenge abhängen.

1.2 Wirkungsintensitätsbezogene Bioverfügbarkeit

Beim Auftragen der Wirkungsintensität gegen den Logarithmus der Arzneistoffmenge bzw. -konzentration ergeben sich in der Regel symmetrische, sigomoide Dosis-Wirkungs-Kurven, wie sie in Abb. 2 dargestellt sind. Die Kurven werden charakterisiert durch die Schwellendosen A_1 bzw. A_2 (minimale Wirkkonzentration), die steilen Bereiche, die $ED_{50(1)}$ bzw. $ED_{50(2)}$ an den Wendepunkten und die Bereiche der maximalen Wirkung bei den Dosen bzw. Konzentrationen größer C_1 bzw. C_2.

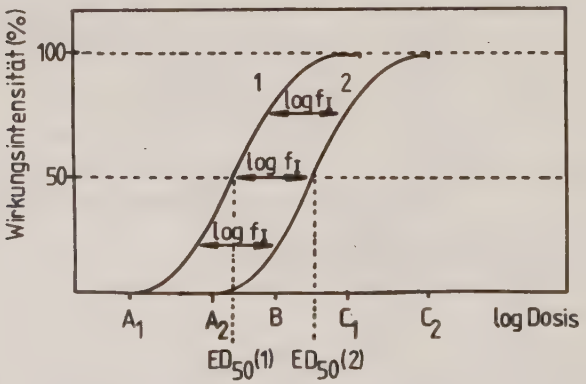


Abb. 2: Dosis-Wirkungs-Kurven von Standard-(1) und Testzubereitung (2) mit gleichem Arzneistoff

Auf Grund dieser nicht linearen Abhängigkeit der Wirkung von der verfügbaren Arzneistoffmenge läßt ein Vergleich zweier verschiedener Zubereitungen bei nur einer Dosis lediglich qualitative und nicht immer eindeutige Aussagen über die biopharmazeutische Qualität der zu testenden Zubereitungen zu: Ein quantitativ erfaßter Wirkungsunterschied gilt nur für die angewandte Konzentration und erlaubt keine Aussage über den nicht untersuchten Konzentrationsbereich (56,60). Vergleicht man in Abb. 2 Standard 1 und Testzubereitung 2 z.B. bei den Konzentrationen A_2 und B, so erhält man verschiedene Wirkungsdifferenzen. Bei der Dosis C_2 dagegen ist kein Wirkungsunterschied festzustellen, obwohl dieser in weiten Bereichen auftritt. Für eine umfassende Beurteilung der Zubereitungen ist daher die Kenntnis der gesamten Dosis-Wirkungs-Kurve notwendig.

Für den Bioverfügbarkeitsvergleich lassen sich dabei zum einen die Dosen bzw. Konzentrationen heranziehen, die zu einer bestimmten Wirkung führen, z.B. die ED_{50}-Werte (horizontaler Vergleich, siehe 1.2.1), zum anderen können unter bestimmten Voraussetzungen dazu auch die Wirkungsdifferenzen von Standard und Test dienen (vertikaler Vergleich, siehe 1.2.2).

Bei einem solchen Vergleich verschiedener Zubereitungen mit gleichem Arzneistoff wird vorausgesetzt, daß entsprechende Dosis-Wirkungs-Kurven in Richtung der x-Achse parallel zueinander verschoben sind, worauf ggf. zu prüfen ist. Abweichungen von der Parallelität könnten z.B. bedingt sein durch adsorptive Bindung von Arzneistoff an Bestandteile der Zubereitung (Hilfsstoffe)

oder durch Wechselwirkungen von Bestandteilen der Zubereitung wie etwa Emulgatoren mit Rezeptoren, die zu einer Veränderung ihrer Ansprechbarkeit führen (98). Als Folge davon wäre auch eine Veränderung der Plateauwerte der Dosis-Wirkungs-Kurven durch die Art der Zubereitung denkbar.

1.2.1 Bioverfügbarkeitsvergleich auf gleichem Wirkungsniveau (Dosisvergleich, horizontaler Vergleich)

Aus Abb. 2 ist ersichtlich, daß mit der Testzubereitung die gleiche Wirkungsintensität wie mit der Standardzubereitung zu erreichen ist, wenn dabei höhere Dosen Anwendung finden (geringere Bioverfügbarkeit der Testarzneiform). Umgekehrt werden niedrigere Dosen benötigt, wenn die Bioverfügbarkeit der Testzubereitung höher ist als die des Standards. Um mit der Testzubereitung das g l e i c h e Wirkungsniveau W % bzw. W zu erreichen, muß eine x-fach größere bzw. kleinere Dosis eingesetzt werden:

$$DW\%T = x \cdot DW\%ST \quad ^{+)} \qquad \text{(Gl. 2)}$$

Da aber die intensitätsbezogene relative Bioverfügbarkeit der für einen bestimmten Effekt benötigten Dosis umgekehrt proportional ist, folgt:

$$f_I = \frac{DW\%ST}{DW\%T} = \frac{1}{x} \qquad \text{(Gl. 3)}$$

+) Als Vergleichsniveau bietet sich dabei die 50%-Wirkung mit den entsprechenden Dosen (ED_{50}-Werte) an (75,85).

f_I = intensitätsbezogener Bioverfügbarkeitsfaktor, mit 100 multipliziert ergibt sich die intensitätsbezogene relative Bioverfügbarkeit in Prozent. Der horizontale Abstand der parallel in Richtung der x-Achse verschobenen Wirkungsgeraden von Standard und Test in Abb. 2 entspricht dabei dem Logarithmus des Bioverfügbarkeitsfaktors f_I:

$$\log f_I = \log DW\%ST - \log DW\%T \qquad (Gl.\ 4)$$

Der Faktor ist vom eingesetzten Arzneistoff unabhängig, da die Steigung der entsprechenden Dosis-Wirkungs-Kurven nicht mit eingeht. f_I beinhaltet sowohl Ausmaß wie auch Geschwindigkeit der Resorption. Bei gleichem Ausmaß der Resorption stellt f_I jedoch ein direktes Maß für die relative Resorptions- bzw. Bioverfügbarkeitsgeschwindigkeit dar.

1.2.2 Bioverfügbarkeitsvergleich über die Wirkungsdifferenz bei gleicher Dosis (vertikaler Vergleich)

In vielen Fällen kann man in einem begrenzten Dosisbereich zwischen minimaler und maximaler Wirkung von einer linearen Beziehung zwischen Wirkung und dem Logarithmus der Dosis ausgehen (Abb. 2) (6,16,55). In diesem Bereich lassen sich die Wirkungsdifferenzen von Standard- und Testzubereitung ebenfalls für den Bioverfügbarkeitsvergleich heranziehen. Zeigen sich bei gleicher applizierter Dosis Unterschiede in der Wirkungsintensität von Standard (W%ST) und Testzubereitung (W%T), so ist der Arzneistoff in der Testzubereitung mehr bzw. weniger verfügbar.

Dabei gilt in den linearen, parallelen Bereichen der Dosis-Wirkungs-Kurven

für den Standard: $W\% = a \log D + b$ (Gl. 5)

und für den Test: $W\% = a \log D + c$ (Gl. 6)

Die Wirkungsdifferenz von Standard und Test bei gleicher Dosis ergibt sich dann unter Bezug auf Gl. 4 und Abb. 2 zu:

$$W\%ST - W\%T = b - c = -a \cdot \log f_I \quad \text{(Gl. 7)}$$

In der Wirkungsdifferenz zweier Zubereitungen, gemessen in den linearen Bereichen der entsprechenden Dosis-Wirkungs-Kurven, ist demnach die arzneistoffspezifische Steigung a mit enthalten. Je nach Steilheit der Dosis-Wirkungs-Kurven resultieren aus Bioverfügbarkeitsunterschieden von Zubereitungen daher verschieden stark ausgeprägte Wirkungsdifferenzen. Zur arzneistoffunabhängigen Beurteilung von Arzneiformen kann aber der relative, intensitätsbezogene Bioverfügbarkeitsfaktor f_I aus der Wirkungsdifferenz berechnet werden:

$$\log f_I = -\frac{W\%ST - W\%T}{a} = \frac{W\%T - W\%ST}{a} \quad \text{(Gl. 8)}$$

$$f_I = 10^{\frac{W\%T - W\%ST}{a}} \quad \text{(Gl. 9)}$$

Sigmoide Dosis-Wirkungs-Kurven lassen sich durch Transformation der Ordinate in Probits (16) bzw. Logits (31,41) in Geraden überführen. Es können damit alle Punkte der Dosis-Wirkungs-Kurve in die Beurteilung des Wirkungsunterschiedes einbezogen

werden. Die statistische Behandlung der Daten ist zudem erleichtert. Darüber hinaus läßt sich die Bestimmung der ED_{50}-Werte einfacher und exakter durchführen (38).

1.3 Wirkungsdauerbezogene Bioverfügbarkeit

Für die Wirkungsdauer und andere zeitbezogene Parameter wie z.B. Zeit bis zum Eintritt einer Wirkung bestehen z.T. komplizierte Beziehungen zur verfügbaren Arzneistoffmenge. Diese sind bei der Beurteilung verschiedener Zubereitungen jeweils einzeln zu berücksichtigen. Dabei ist über die Wirkungsdauer unter bestimmten Voraussetzungen eine direkte Bestimmung der Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten möglich (siehe II.3.2) (55), andererseits lassen sich in Analogie zu Gl. 7 für lineare parallele Bereiche entsprechender Dosis-Wirkungs-Kurven relative, dauerbezogenen Bioverfügbarkeitsfaktoren (f_D) berechnen.

1.4 Wirkungsintensität- und dauerbezogene Bioverfügbarkeit

Für den therapeutischen Wert einer Zubereitung ist im allgemeinen nicht nur die Intensität oder nur die Dauer der Wirkung allein von Bedeutung. Zur umfassenden Beurteilung der Wirksamkeit und somit auch der Bioverfügbarkeit eignen sich daher besonders Parameter, die Intensität und Dauer der Wirkung gemeinsam beinhalten. Einen solchen Parameter stellt die Fläche unter der Wirkungsintensitäts-Zeit-Kurve dar. Auch für diesen Parameter können für lineare parallele Bereiche entsprechender Dosis-Wirkungs-Kurven relative intensitätsdauerbezogene Biover-

fügbarkeitsfaktoren bestimmt werden (f_{ID}).

Mit diesen drei Faktoren (f_I, f_D und f_{ID}) ergibt sich nicht notwendigerweise jeweils die gleiche quantitative Einordnung verschiedener Zubereitungen hinsichtlich ihrer Bioverfügbarkeit. Qualitativ ist mit den verschiedenen Faktoren allerdings die gleiche Einteilung zu erwarten. Diese Überlegungen sind Grundlage der Bewertung unterschiedlicher Salbengrundlagen im Hinblick auf ihre biopharmazeutische Qualität.

2. Anwendung auf topische, lokal wirkende Zubereitungen

2.1 Allgemeine Gesichtspunkte bei der Arzneistoffaufnahme durch die Haut

Die zuvor abgehandelten allgemein gültigen Kriterien für die Bioverfügbarkeit lassen sich unter Berücksichtigung der komplexen Diffusionsvorgänge nach Applikation von Salben mit gewissen Einschränkungen auch auf diese Arzneiformen anwenden. Die im allgemeinen durch passive Diffusion ablaufenden Vorgänge der Freisetzung und der Resorption sind in Abb. 3 vereinfacht dargestellt.

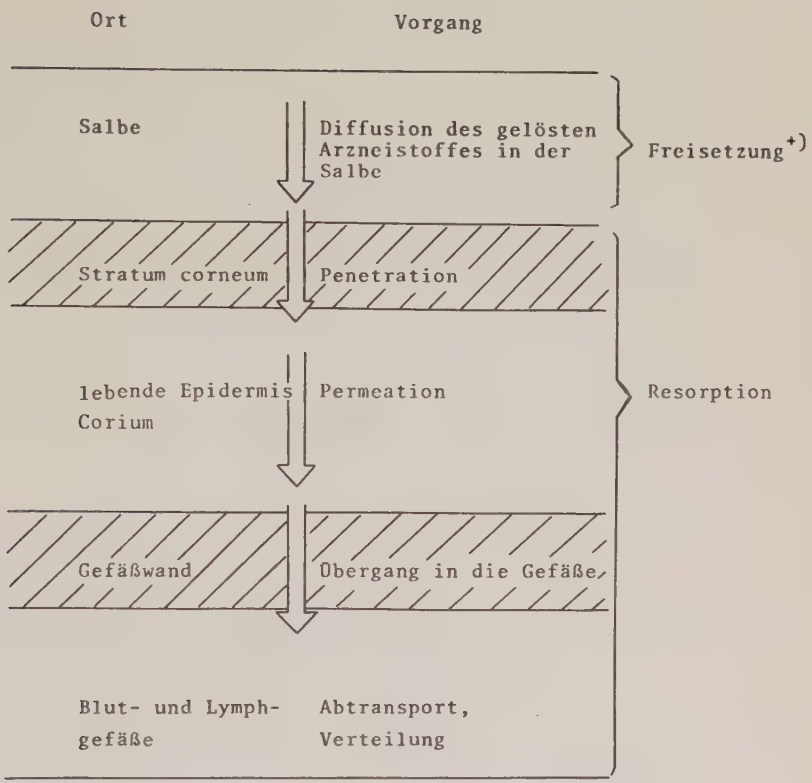


Abb. 3 : Diffusionsvorgänge nach der Applikation von Lösungssalben

---

+) in Suspensionssalben kommt zusätzlich der Vorgang der Auflösung hinzu

Dabei wird im allgemeinen angenommen, daß die Diffusion des Arzneistoffes in der Salbe, die Permeation und der Übertritt in die Gefäße (Aufnahme in den Gesamtorganismus) im Vergleich zur Penetration durch das Stratum corneum schnell ablaufende Vorgänge sind (34,51,79,88) +). Somit vereinfacht sich das pharmakokinetische Modell für eine Lösungssalbe (Abb. 3) zu einem einfachen Membranmodell wobei das Stratum corneum als eine homogene Barriere angesehen wird ++) (Abb. 4).

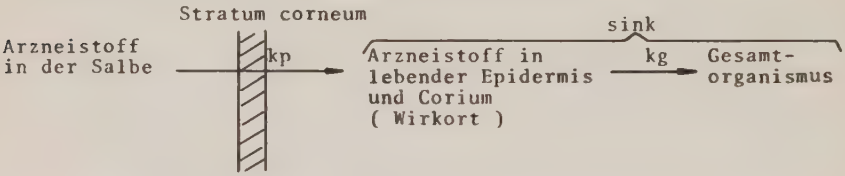


Abb. 4 : Membranmodell der Arzneistoffaufnahme durch die Haut

kp = Geschwindigkeitskonstante für die Penetration des Arzneistoffs durch das Stratum corneum

kg = Geschwindigkeitskonstante für die Aufnahme des Arzneistoffs in den Gesamtorganismus bzw. den Abtransport aus dem Wirkort, $kg \gg kp$

+) Durch die Veränderung der kolloidchemischen Struktur von Salben oder durch spezifische Bindungen des Arzneistoffs an Bestandteile der Grundlage ist jedoch eine so starke Behinderung bzw. Verlangsamung der Diffusion denkbar, daß sie in der Größenordnung der Penetration liegt. Auch im Falle von Suspensionssalben könnte langsame Auflösung des Arzneistoffes die Penetration verzögern.

++) Die Aufnahme des Arzneistoffes durch Talg- und Schweißdrüsen sowie entlang der Haarfollikeln, die vor allem in der Anfangsphase der Penetration von Bedeutung sein dürfte (Porendiffusion, 33,51), wird hierbei nicht gesondert berücksichtigt desgleichen wird nicht zwischen inter- und intrazellulärer Arzneistoffaufnahme (1,79) differenziert.

Dabei wirken lebende Epidermis sowie Corium mit den darin enthaltenen Gefäßen als "sink", d.h. die hier vorhandene Konzentration bleibt klein im Vergleich zu der in der applizierten Salbe. Unter diesen Bedingungen und unter der Annahme, daß die frei diffundierbare Arzneistoffmenge im Stratum corneum klein im Verhältnis zur entsprechenden Arzneistoffmenge in der Salbe ist, läßt sich das erste Fick'sche Gesetz anwenden. Für den quasistationären Zustand bei der Arzneistoffaufnahme aus einer Lösungssalbe gilt (59):

$$-\frac{dM_V}{dt} = \frac{D \cdot F \cdot VK}{d} \cdot c_V \qquad \text{(Gl. 10)}$$

$$-\frac{dc_V}{dt} = \frac{D \cdot F \cdot VK}{d \cdot V_V} \cdot c_V = kp \cdot c_V \qquad \text{(Gl. 11)}$$

M_V = Arzneistoffmenge im Vehikel (als ungebunden und undissoziiert angenommen)

D = Diffusionskoeffizient im Stratum corneum

F = Applikationsfläche

VK = Verteilungskoeffizient Stratum corneum/Grundlage

d = Dicke des Stratum corneum

V_V = Volumen der applizierten Salbe

c_V = Konzentration an gelöstem Arzneistoff im Vehikel (als ungebunden und undissoziiert angenommen)

kp = Aufnahmegeschwindigkeitskonstante (Penetration)

Die Salbengrundlage kann sich demnach vor allem über 3 verschiedene Mechanismen auswirken (2,52,84):

1. Spezifische Bindungen des Arzneistoffes an Bestandteile des Vehikels (93,94) oder Dissoziationsvorgänge führen zu einer Beeinträchtigung der Freisetzung bzw. der Penetration die pharmazeutisch verfügbare Menge ist verringert. In diesen Fällen muß der Faktor f_v eingeführt werden, der den Anteil (Fraktion) angibt der tatsächlich resorbierbar ist.

2. Je nach Zusammensetzung des Vehikels resultiert ein unterschiedlicher Verteilungskoeffizient Stratum corneum/Grundlage.

3. Aufbringen einer Salbe auf die Haut bzw. ihr Eindringen verändert die Eigenschaften des Stratum corneum und damit z.B. den Diffusions- und Verteilungskoeffizienten.

Diese Überlegungen gelten in gleicher Weise für Zubereitungen von Wirkstoffen, die lokal oder systemisch (40,45,64) wirken sollen. Zur Beurteilung der Bioverfügbarkeit eingearbeiteter Wirkstoffe lassen sich die Konzentrationen im Blut, die ausgeschiedenen Mengen und vor allem die Konzentrationen am eigentlichen Wirkort [+)] nur schwierig erfassen und sind darüber hinaus mit der erwünschten pharmakologischen Wirkung zu korrelieren. Aus diesen Gründen liegt es nahe, die Messung der Intensität und Dauer pharmakologischer Effekte für den Vergleich der Bioverfügbar-

---

[+)] Bei beabsichtigter lokaler Wirkung stellen Epidermis, Corium und tiefer gelegene Gewebe den Wirkort dar. Der Wirkort des hier untersuchten Nicotinsäurebenzylesters dürfte vor allem im Bereich der Kapillaren im Corium liegen.

keit heranzuziehen (7,51,59,86,97). Geht man davon aus, daß bei ausreichend langer Belassung von Salben auf der Haut der gesamte Arzneistoff aufgenommen wird, sind Unterschiede in der Bioverfügbarkeit (Intensität und Dauer der Wirkung) allein eine Folge der unterschiedlichen Aufnahmegeschwindigkeit.

2.2 Wirksamkeitsparameter für Nicotinsäurebenzylestersalben

2.2.1 Pharmakologische Wirkung des Nicotinsäurebenzylesters

Nach Applikation von Nicotinsäureester entsteht in Abhängigkeit von der Konzentration des Esters nach verschieden langer Latenzzeit auf der Haut ein Erythem unscharfer Begrenzung. Dabei werden die Kapillaren am Stamm und an den promaximalen Extremitäten besonders stark erweitert. An den Acren dagegen zeigt sich nur eine schwache Reaktion (9,92). Infolge der Hyperämie im Kapillarbereich kommt es zu einer Steigerung der Hauttemperatur, damit auch zu konvektiver Wärmeabgabe und Infrarotstrahlung (4). Applikation von Nicotinsäureestern gestattet daher eine direkte Messung ihrer Wirkung über das entstehende Erythem . Sie fanden daher bereits in der Vergangenheit Anwendung bei orientierenden Untersuchungen über den Einfluß von Salbengrundlagen auf die Wirksamkeit entsprechender topischer Präparate (7,26,59). In der vorliegenden Untersuchung wird i.a. ohne Okklusion gearbeitet, um möglichst gebräuchliche Verhältnisse zu gewährleisten. Es werden mehrere Arzneistoffkonzentrationen getestet und dabei eine Reihe verschiedener Wirksamkeitsparameter für die Messung herangezogen.

2.2.2 Auswahl der Wirksamkeitsparameter

Temperaturerhöhung als ein Maß für die Hyperämie zählt nach Meinung namhafter Dermatologen zu den hinsichtlich Trennschärfe und Reproduzierbarkeit besonders geeigneten Meßparametern, ebenso die Hautrötung, allerdings mit geringerer Trennschärfe (10, 23). Während die über die Hauttemperatur gemessenen Parameter in etwa 3 Stunden wieder Ausgangswerte erreichen, bleibt das Erythem unter Umständen länger sichtbar.

An Hand der Hautrötung werden folgende Parameter untersucht: [+)]

a) Latenzzeit bis zum Auftreten eines sichtbaren Erythems (t_R, in min); als eigentlicher Wirksamkeitsparameter wird der reziproke Wert der Latenzzeit ($1/t_R$) eingesetzt.
b) Dauer der Rötung (D_R, in Std.)
c) Flächenzunahme des Erythems (F_R, in %).

An Hand der Temperaturerhöhung:

a) Maximale Temperaturerhöhung (Tmax, in ^oC)
b) Zeit bis zum Erreichen der maximalen Temperaturerhöhung (t_{Tmax}, in min); als Wirksamkeitsparameter wird entsprechend t_R der reziproke Wert $1/t_{Tmax}$ herangezogen.
c) Dauer der Temperaturerhöhung (D_T, in min)
d) Fläche unter der Temperaturzunahme/Zeit-Kurve (F/T; in $^oC \cdot min$)

+) Auf die Messung der Rötungsintensität (siehe I.1.2.1 exp. Teil) als quantitativer Parameter wird in den Reihenversuchen aus meßtechnischen Gründen verzichtet.

3. Wirksamkeitsmessungen als Kriterium der Bioverfügbarkeit und Bewertung der Parameter

Allgemeine Voraussetzungen

Zeigen zwei verschiedene Zubereitungen mit dem gleichen Arzneistoff und der gleichen Dosis unterschiedliche Wirkungen, z.B. mit einem der in II.2.2 aufgeführten Meßparameter, so ist der Grund für die verschiedene Wirkung in einer unterschiedlichen Bioverfügbarkeit zu suchen.

Ausmaß oder Geschwindigkeit der Arzneistoffaufnahme oder auch beide zugleich werden durch die Zubereitung unterschiedlich beeinflußt. Sie lassen sich ohne zusätzliche Voraussetzungen nicht differenzieren. Diese ergeben sich aus den durchgeführten Versuchsreihen: Werden die Wirksamkeiten verschiedener Konzentrationen an Nicotinsäurebenzylester in der gleichen Salbengrundlage verglichen, so kann man davon ausgehen, daß die Aufnahmegeschwindigkeitskonstante gleich ist. Bei Applikation unterschiedlicher Zubereitungen kann man mit gewissen Einschränkungen [+)] von gleichem Ausmaß der Bioverfügbarkeit ausgehen (= gleiches relatives Ausmaß der Bioverfügbarkeit). Damit sind Unterschiede in der Wirksamkeit auf unterschiedliche Aufnahmegeschwindigkeiten

---

[+)] 1. Keine irreversiblen Bindungen des Arzneistoffes an Salbenbestandteile.

2. Mögliche Abdunstung des Esters nach Applikation, seine enzymatische Spaltung sowie Regeneration des Stratum corneum und damit Abstoßung esterhaltiger Zellagen (39) werden durch Bestandteile der Grundlage nicht unterschiedlich beeinflußt bzw. wirken sich solche Unterschiede auf die Messung der Wirksamkeit nicht aus.

zurückzuführen. Die verwendeten Meßparameter werden unter diesen Gesichtspunkten diskutiert. Es erscheint eine Einteilung in intensitätsbezogene, intensitäts/dauerbezogene, sowie dauer- bzw. zeitbezogene Meßparameter sinnvoll.

3.1 Intensitätsbezogene Parameter

Maximale Temperaturerhöhung (Tmax)

Die Intensität der Wirkung wird direkt über die maximale Temperaturerhöhung (Tmax) erfaßt. Die Tmax-Werte steigen daher bei einer Zubereitung mit zunehmender Nicotinsäurebenzylesterkonzentration (=zunehmender Dosis) bis zu einem maximalen Wert an. Trägt man die Tmax-Werte gegen die Logarithmen der eingesetzten Konzentration auf, so sollten sigmoide Dosis-Wirkungs-Kurven resultieren.

In Abb. 5 sind dazu als Beispiel die experimentellen Werte für Vaseline von 5 Probanden aufgetragen. Die Kurven sind unterschiedlich ausgeprägt. So kann man z.B. bei Kurve B davon ausgehen, daß das Plateau (=maximaler Effekt) noch nicht erreicht ist. Bei den anderen Kurven deutet sich ein asymptotischer Verlauf an. Der von Proband zu Proband variierende Kurvenverlauf ist auf interindividuelle Unterschiede sowie die Streuung der Meßwerte zurückzuführen (siehe dazu II.3.4).
Vergleicht man allerdings verschiedene Salben bei gleicher Konzentration (= gleiche Dosis) hinsichtlich der maximalen Temperaturerhöhung, so ist Tmax eine Funktion der Aufnahmegeschwindigkeit. Dabei ist es notwendig, die gesamte Dosis-Wirkungs-Kurve zu berücksichtigen bzw. ihre linearen Bereiche ausfindig zu machen (vergl. II.1.1).

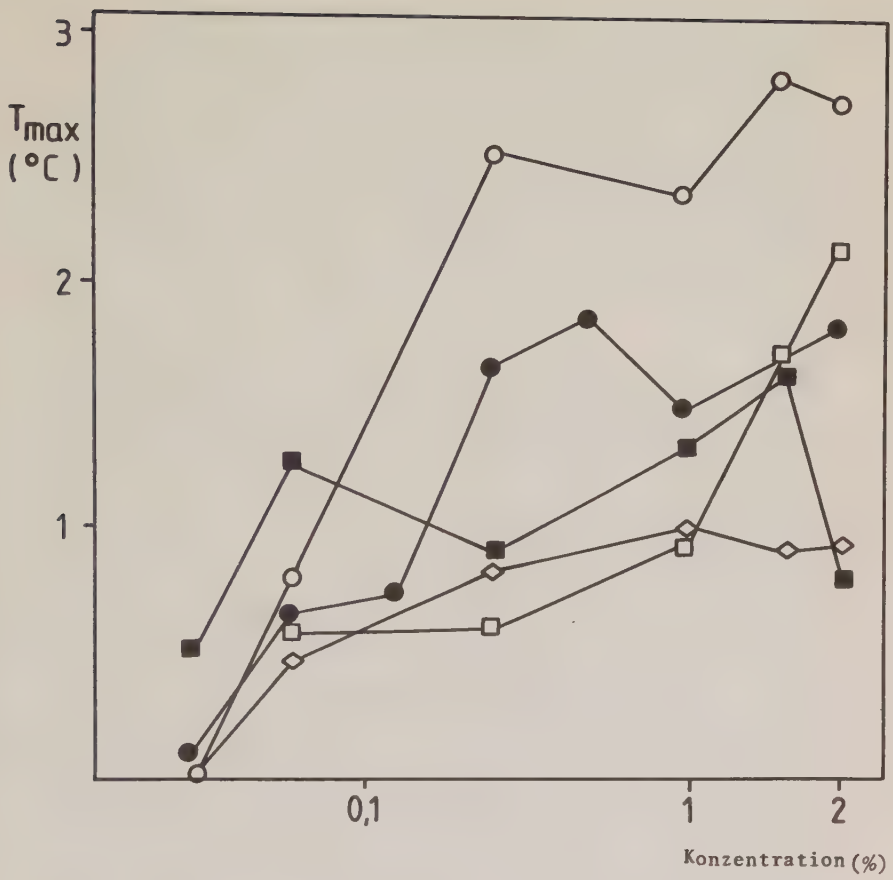


Abb. 5 : Maximale Temperaturerhöhung (Tmax) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung); Nicotinsäurebenzylester in Vaseline
5 Versuchspersonen. Die eingezeichneten Meßwerte sind Mittelwerte aus 3 Versuchen

—■— Proband L
—◇— " A
—○— " R
—●— " T
—□— " B

Zur Vereinfachung des Vergleichs von Test und Standardzubereitung [+)] werden die Kurven in Geraden transformiert (Logittransformation). Unter Zugrundelegung der Okkupationstheorie ergeben sich bei Auftragung der Logitwerte der gemessenen Wirkung gegen die Logarithmen der eingesetzten Konzentrationen Geraden [++)] (31, 38, 41). Die Logit-Werte stellen dabei den Logarithmus des Quotienten aus Prozent

---

+) In den durchgeführten Versuchsreihen wird nicotinsäurebenzylesterhaltige Vaseline als Standard eingesetzt.

++) Der Dosis-Wirkungs-Kurve liegt folgende Beziehung zugrunde:

$$\frac{\%\text{ der maximalen Wirkung}}{100\% - \%\text{ der maximalen Wirkung}} = (K \cdot c)^a \qquad \text{(Gl. 12)}$$

Durch Logarithmieren und Umformen erhält man:

$$\log \frac{\%\text{ der maximalen Wirkung}}{100\% - \%\text{ der maximalen Wirkung}} = a \cdot \log K + a \log c \qquad \text{(Gl. 13)}$$

Dabei stellt c die eingesetzte Konzentration bzw. Dosis und K die Assoziationskonstante des Pharmakon - Rezeptor-Komplexes dar. Bei unterschiedlichen Substanzen ist K ein Kriterium für die unterschiedliche Affinität dieser Substanzen zum Rezeptor. Die Steigung der transformierten Dosis-Wirkungs-Kurve ergibt sich aus dem Faktor a,a entspricht der Anzahl der Arzneistoffmoleküle die mit einem Rezeptor reagieren (häufig 1). Im Falle der gleichen Wirksubstanz in verschiedenen Zubereitungen läßt sich über K die Bioverfügbarkeit erhalten,im vorliegenden Fall die Bioverfügbarkeitsgeschwindigkeit (siehe II.1).

der maximalen Wirkung und der Differenz aus 100 Prozent und Prozent der maximalen Wirkung dar. Für die Transformation ist also die Kenntnis der maximal möglichen Wirkung (=100% Wirkung) notwendig. Da diese Plateau-Werte aus den experimentellen Daten nicht in allen Fällen und nicht immer eindeutig bestimmbar sind, werden sie durch iterative Berechnung ermittelt (I.2.1.2 exp. Teil). Die ED_{50}-Werte ergeben sich dann für Logit O.

Prozentuale Flächenzunahme des Erythems (F_R)

Da die prozentuale Flächenzunahme des Erythems in dem festgesetzten Zeitintervall von O - 80 Minuten gemessen wird, kann F_R den intensitätsbezogenen Wirksamkeitsparametern zugeordnet werden. In Abb. 7 sind die Flächenausbreitungen bei 5 Probanden nach Applikation von Nicotinsäurebenzylester in Vaseline gegen die Logarithmen der Konzentration aufgetragen. Der Kurvenverlauf kann folgendermaßen interpretiert werden: Ab einer bestimmten Schwellenkonzentration entsteht direkt unterhalb der Applikationsfläche ein Erythem. Durch den Verdünnungseffekt bei der radialen Diffusion wird bei niedrigen Konzentrationen außerhalb dieser Fläche die Schwellenkonzentration nicht erreicht. Erst durch Konzentrationserhöhung in der applizierten Salbe ergibt sich auch über die behandelte Fläche hinaus eine Rötung (siehe Abb. 6). Diese Flächenzunahme erfolgt allerdings bei steigender Konzentration wegen des längeren Diffusionsweges in immer kleineren Schritten. Dadurch entsteht ein der Dosis-Wirkungs-Kurve ähnlicher Konzentrationsverlauf (Abb. 7).

Bei verschiedenen Zubereitungen gleicher Arzneistoffkonzentration steht F_R in Beziehung zur Aufnahmegeschwindigkeit. Bei zu niedriger Aufnahmegeschwindigkeit wird die für die Rötung notwendige Konzentration am Wirkort außerhalb des Erythems nicht erreicht. Als zusätzlicher Gesichtspunkt bei dem Vergleich verschiedener Zubereitungen ist hier die Spreitung der Grundlage auf der Haut zu berücksichtigen (siehe dazu III.1.1).

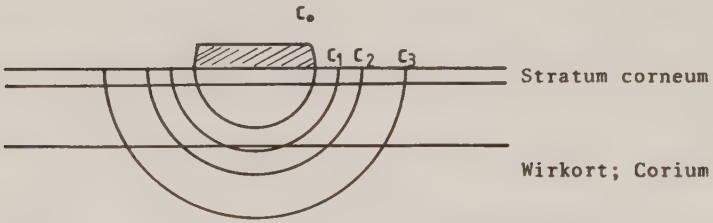


Abb. 6 : Ausbildung eines Konzentrationsgefälles nach Applikation wirkstoffhaltiger Salben

c_o = Konzentration in der Salbe

$c_o > c_1 > c_2 > c_3$

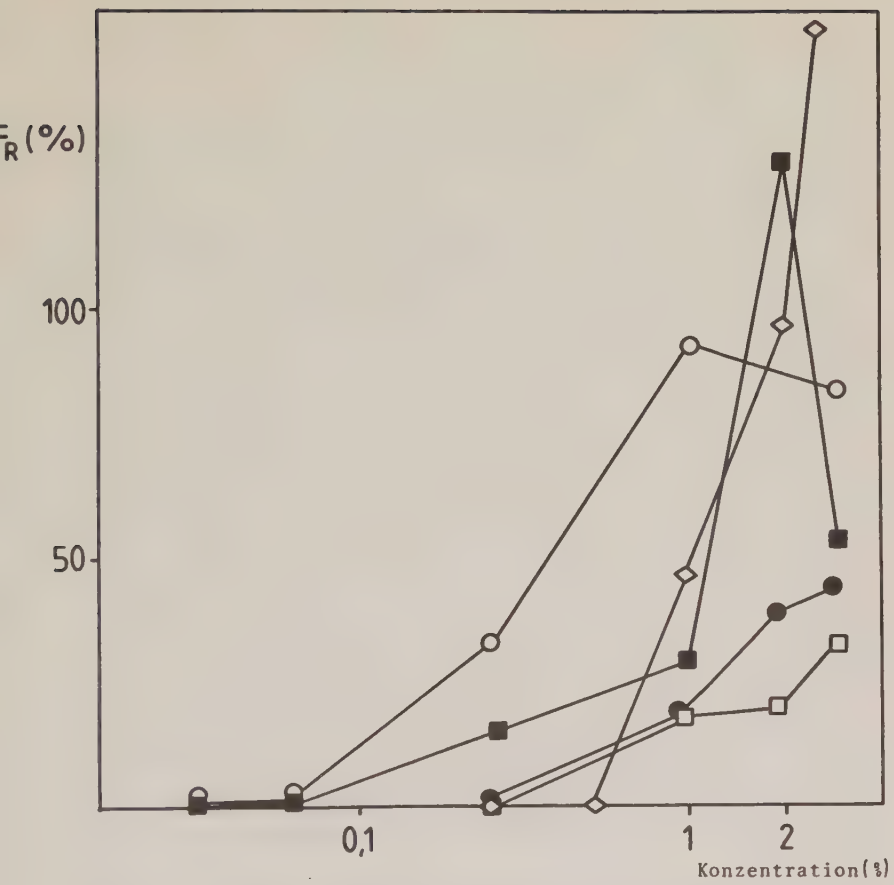


Abb. 7: Flächenzunahme des Erythems (F_R) in Abhängigkeit von der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (logarithmische Auftragung)

5 Versuchspersonen, Mittelwerte aus 3 Versuchen

—■— Proband L
—◇— " A
—○— " R
—●— " T
—□— " B

3.2 Dauer- bzw. zeitbezogene Parameter

Dauer der Temperaturerhöhung (D_T) und Dauer der Rötung (D_R)

Die Wirkungsdauer, also die Dauer der Temperaturerhöhung bzw. die Dauer der Rötung, ist innerhalb einer Salbengrundlage von der eingesetzten Konzentration abhängig. Hierbei ist kein der sigmoiden Dosis-Wirkungs-Kurve entsprechender Kurvenverlauf zu erwarten. Vielmehr steigen Dauer der Temperaturerhöhung bzw. der Rötung ab einer Schwellenkonzentration kontinuierlich mit Erhöhung der Konzentration an. Dieser Konzentrationseinfluß vermindert sich allerdings mehr und mehr. Als Beispiel sind für die Rötungsdauer diese Verhältnisse in Abb. 8 an Hand simulierter Konzentrations-Zeit-Kurven mit gleicher Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten, gleicher Eliminationsgeschwindigkeitskonstanten und unterschiedlichen Dosen dargestellt. In Abb. 9 und 10 ist dazu die experimentell ermittelte Dauer der Temperaturerhöhung bzw. die Dauer der Rötung von 5 Probanden nach Applikation von Nicotinsäurebenzylester in Vaseline in Abhängigkeit von den Logarithmen der Konzentration aufgetragen.

Unter bestimmten Voraussetzungen läßt sich aus der Dauer eines Effektes die Aufnahmegeschwindigkeitskonstante berechnen. Wenn die Eliminationsgeschwindigkeit viel größer ist als die Aufnahmegeschwindigkeitskonstante, die Arzneistoffaufnahme einer Kinetik erster Ordnung folgt und der Effekt ebenso schnell wie die Konzentration abnimmt, ergibt sich für die Dauer der Wirkung (55):

$$t_D = \frac{2,3}{kp} \log M_o - \frac{2,3}{kp} \log M_{min} \qquad \text{(Gl. 14)}$$

M_o = Arzneistoffmenge in den Salben

M_{min} = kleinste noch wirksame Arzneistoffmenge in der Salbe

kp = Aufnahmegeschwindigkeitskonstante

t_D = Dauer der Wirkung (z.B. D_T, D_R)

Diese lineare Beziehung zwischen der Dauer der Wirkung und dem Logarithmus der eingesetzten Menge bzw. Konzentration ermöglicht die Berechnung der Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten kp über die Steigung. Die kleinste noch wirksame Arzneistoffmenge bzw. die minimale Wirkkonzentration ist durch den Schnittpunkt der Geraden mit der Abszisse gegeben.

Beim Vergleich verschiedener Zubereitungen mit gleicher Konzentration und gleichem Ausmaß der Bioverfügbarkeit bedeutet eine auftretende Temperaturerhöhung bzw. Rötung, daß die Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten ausreichend groß sind, um am Wirkort die minimal notwendige Konzentration zu erreichen. Allerdings ist bei diesen Parametern D_T und D_R eine parabolische Beziehung zur Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten möglich. D.h. diese Parameter werden zunächst mit der Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten steigen, einen optimalen Wert erreichen, um danach wieder abzufallen. Dies wird in Abb. 11 deutlich. Hier ist als Beispiel aus den simulierten Konzentrations-Zeit-Kurven, mit gleicher Dosis, gleicher Eliminationskonstante und verschiedenen Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten die Dauer des Effekts in Abhängigkeit von der Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten aufge-

tragen (Abb. 11a). Bei gleicher Dauer der Wirkung läßt sich demnach nicht auf gleiche Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten schließen.

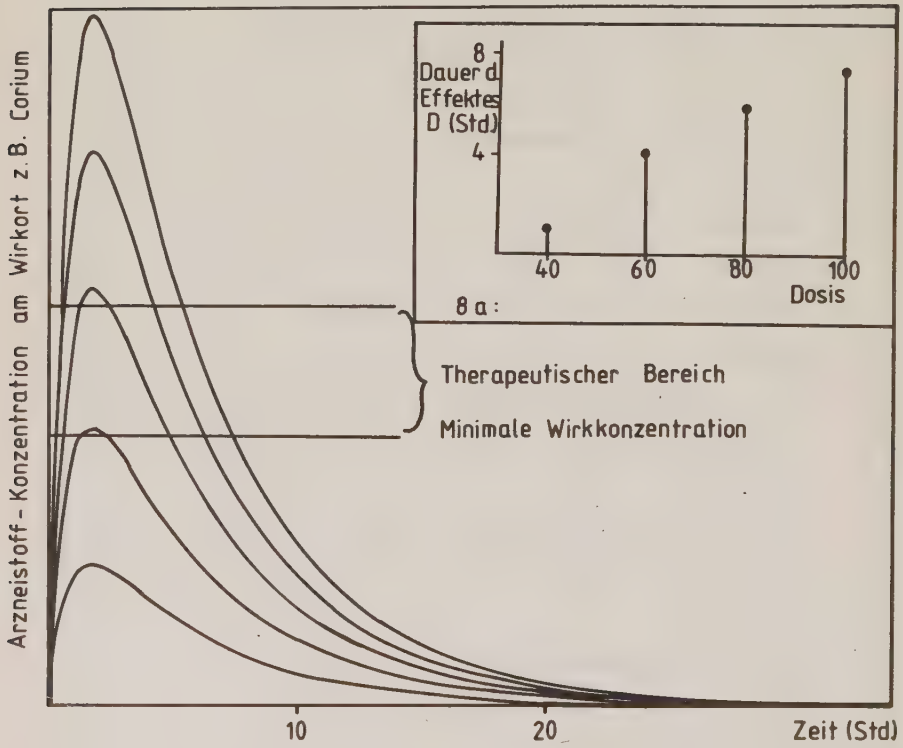


Abb. 8: Simulierte Konzentrations-Zeit-Kurven mit gleicher Aufnahmegeschwindigkeitskonstante (kp = 1,2 Std.$^{-1}$), gleicher Eliminationskonstante (ke = 0,2 Std.$^{-1}$) und unterschiedlichen Dosen

8a: Die Dauer des Effektes (D) ist in Abhängigkeit von der eingesetzten Dosis aufgetragen

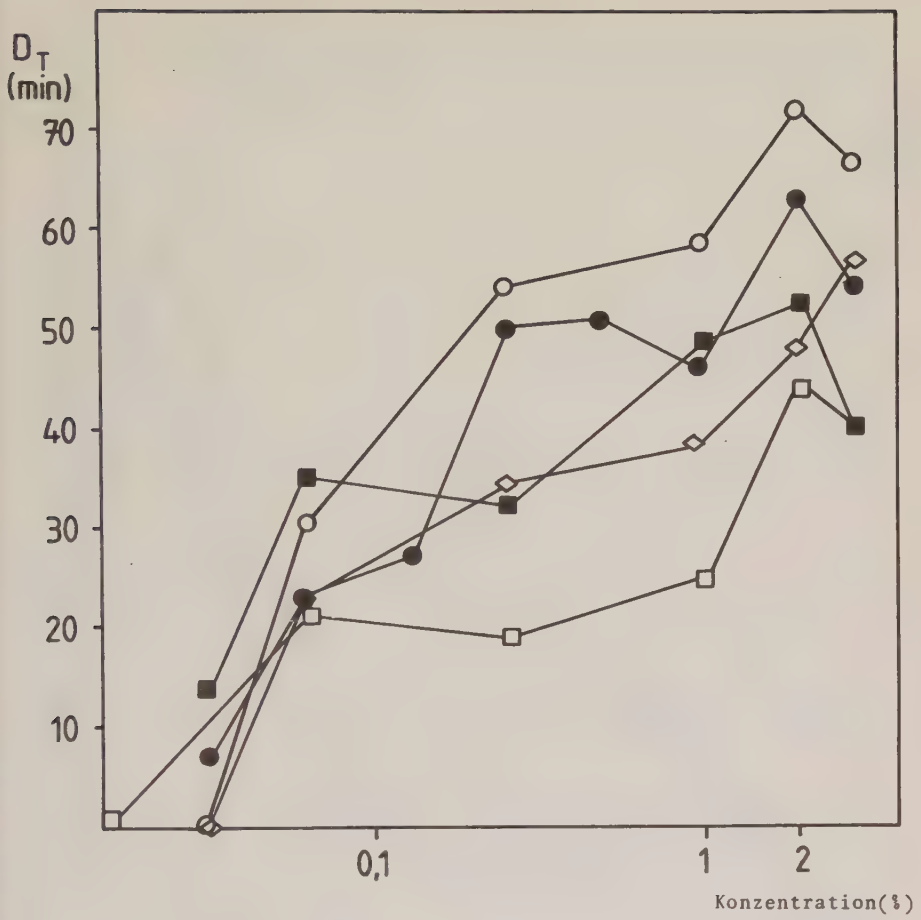


Abb. 9: Dauer der Temperaturerhöhung (D_T) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung), Nicotinsäurebenzylester in Vaseline
5 Versuchspersonen, Mittelwert aus jeweils 3 Versuchen

—■— Proband L
—◇— " A
—○— " R
—●— " T
—□— " B

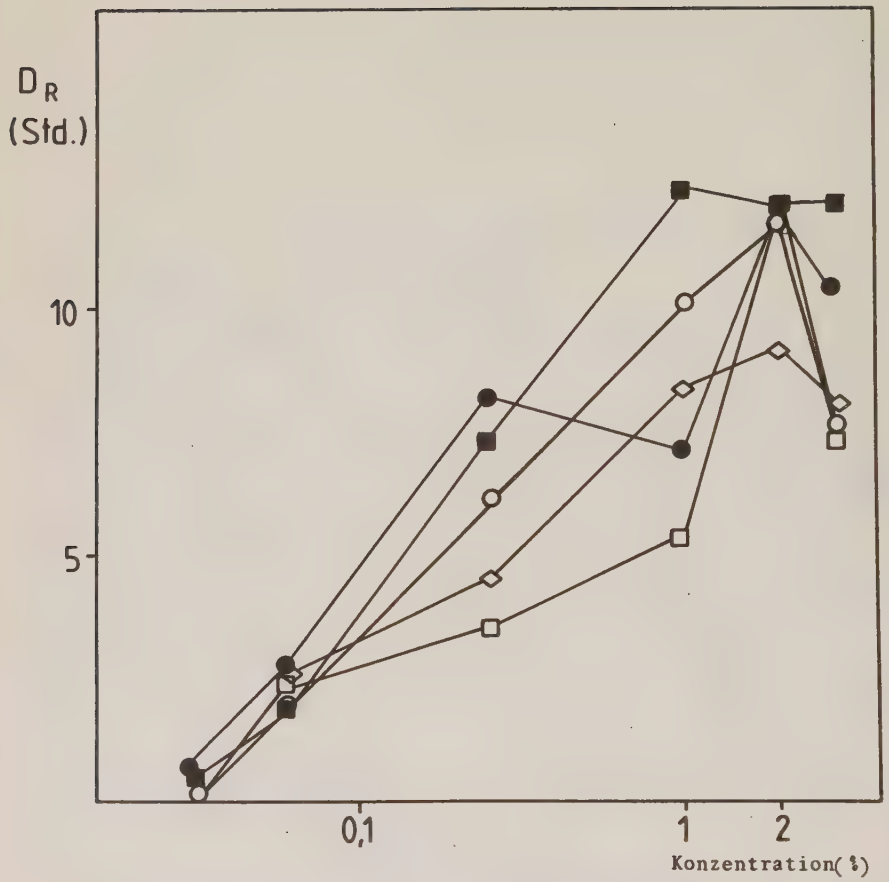


Abb. 10 : Dauer der Rötung (D_R) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung), Nicotinsäurebenzylester in Vaseline
5 Versuchspersonen, Mittelwerte aus 3 Versuchen

Proband L
" A
" R
" T
" B

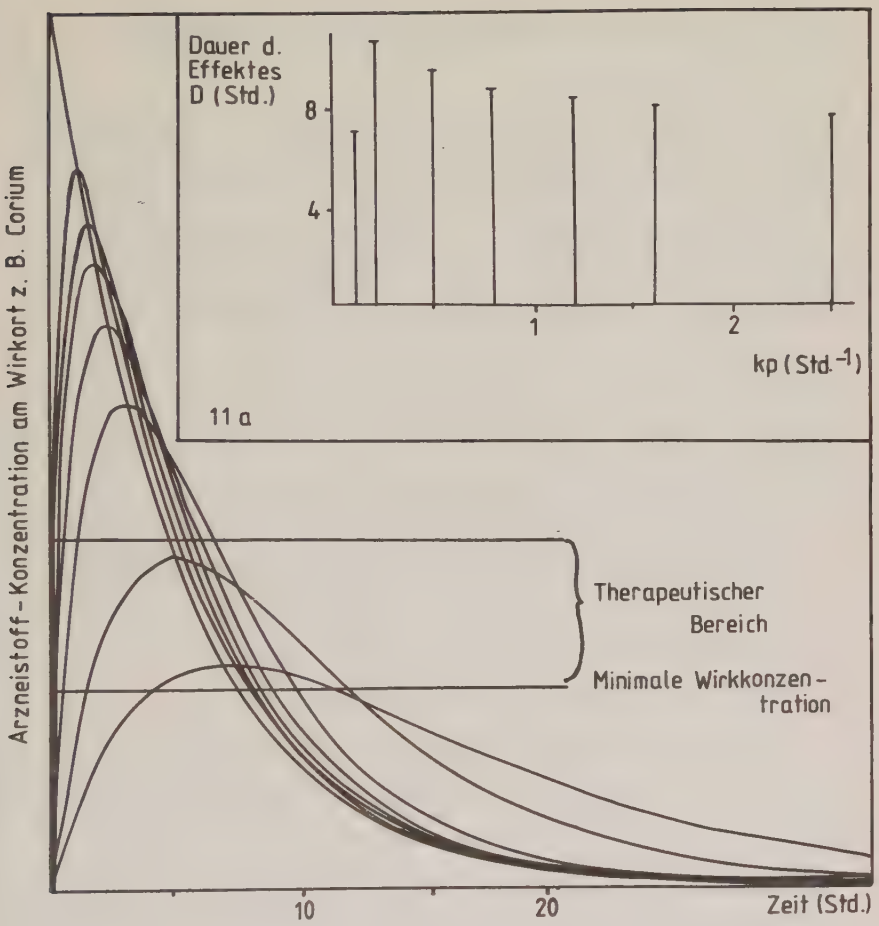


Abb.11 : Simulierte Konzentrations-Zeit-Kurven bei gleicher Dosis und gleicher Eliminationskonstante (ke = 0,2 Std.$^{-1}$) verschiedene Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten (kp = 0,1; 0,2; 0,5; 0,8; 1,2; 1,6; 2,5 Std.$^{-1}$)

11a: Die Dauer des Effektes (D) ist in Abhängigkeit von der Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten kp aufgetragen

Reziproker Wert der Zeit bis zur maximalen Temperaturerhöhung ($1/t_{Tmax}$)

Entsprechend allgemeinen pharmakokinetischen Prinzipien (21) liefert die Zeit bis zur maximalen Temperaturerhöhung bzw. ihr reziproker Wert im Gegensatz zu den anderen Parametern bei verschiedenen Arzneistoffkonzentrationen in einer Zubereitung keine Aussage über das Ausmaß der Arzneistoffaufnahme, d.h. t_{Tmax} bzw. $1/t_{Tmax}$ ist konzentrationsunabhängig. In Abb. 12 sind Temperaturzunahme-Zeit-Kurven mit den jeweiligen t_{Tmax} - Werten für Salhumin Gel aufgezeichnet. Die maximalen Temperaturerhöhungen werden etwa zur gleichen Zeit erreicht (zwischen 31 und 71 Minuten). Darüber hinaus läßt sich auch beim Vergleich von 2 verschiedenen Esterkonzentrationen (0,063 und 1% in Vaseline) an 12 bzw. 13 Versuchspersonen für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $P \leq 0{,}05$ für $1/t_{Tmax}$ kein signifikanter Unterschied feststellen (Tab. 4).

Bei Polyethylenglykolsalbe und bei Mikroemulsion treten allerdings im unteren Konzentrationsbereich in der Mehrzahl der Versuche überhaupt keine Temperaturerhöhungen auf; in einigen Fällen werden jedoch sehr niedrige maximale Temperaturerhöhungen schon nach kurzer Zeit erreicht ($t < 10$ min). An der unteren Grenze der meßbaren Wirkung ist die Bestimmung der t_{Tmax}-Werte daher problematisch. Dies wird in Abb. 13 deutlich, in der die Zeiten bis zum Erreichen der maximalen Temperaturerhöhung in Abhängigkeit vom Logarithmus der Konzentration für Vaseline

und verschiedene Probanden aufgetragen sind.

Wird die gleiche Konzentration an Nicotinsäurebenzylester in verschiedenen Salbengrundlagen gegeben, so spiegeln die $1/t_{Tmax}$-Werte die unterschiedlichen Aufnahmegeschwindigkeiten bzw. Geschwindigkeitskonstanten wider. $1/t_{Tmax}$ steigt dabei mit steigender Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten, allerdings nicht linear sondern entsprechend (30,55):

$$1/t_{Tmax} = \frac{ka - ke}{2{,}303 \log ka/ke} \qquad \text{(Gl. 15)}$$

Auch ohne die Voraussetzung des gleichen Ausmaßes der Bioverfügbarkeit bzw. der gleichen Dosis ist $1/t_{Tmax}$ wegen der Konzentrationsunabhängigkeit nur eine Funktion der Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten.

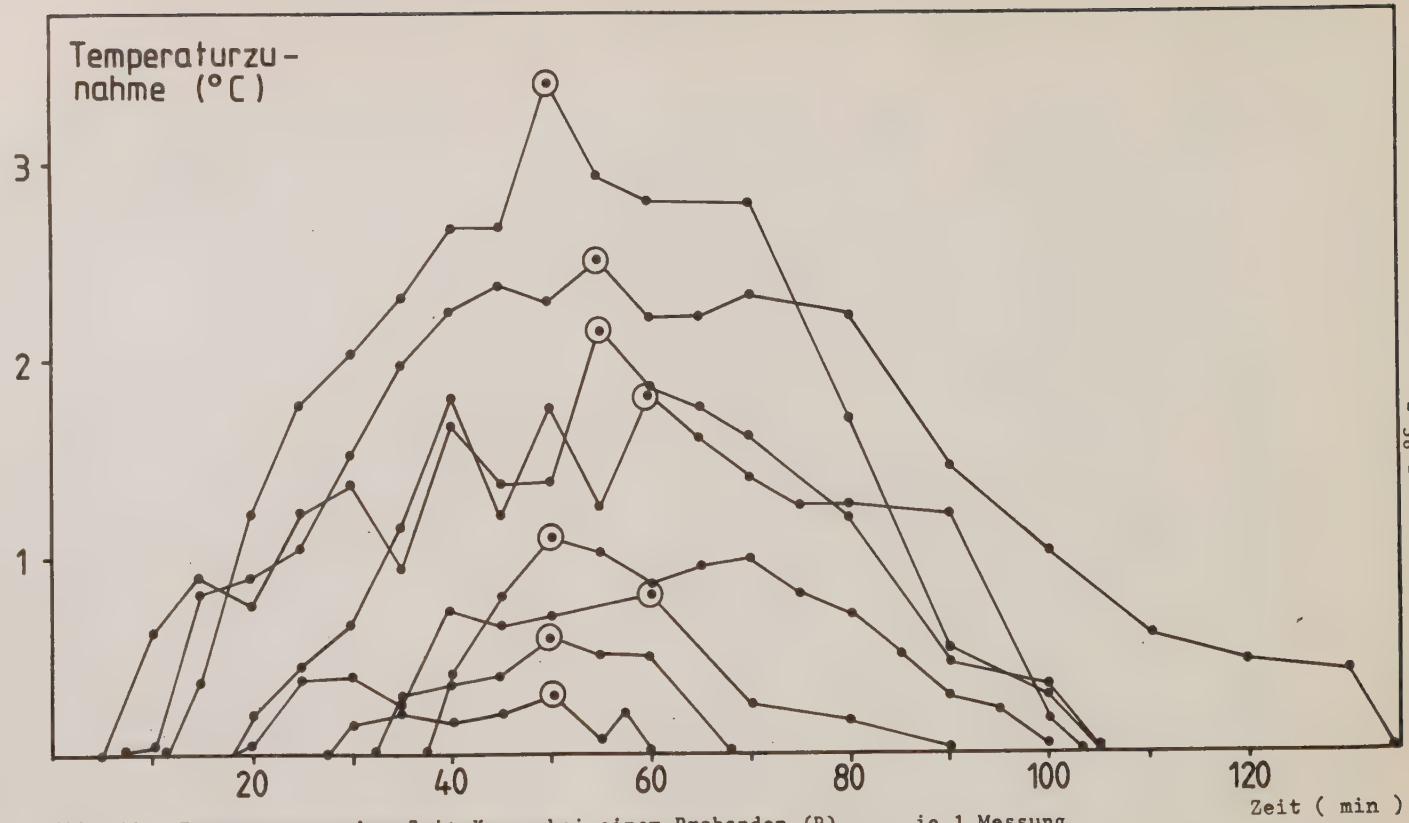


Abb. 12 : Temperaturzunahme-Zeit-Kurve bei einem Probanden (R), je 1 Messung bei 8 verschiedenen Konzentrationen (0,063 - 2% Nicotinsäurebenzylester)

⊙ = t_{Tmax}-Werte (Salhumin Gel)

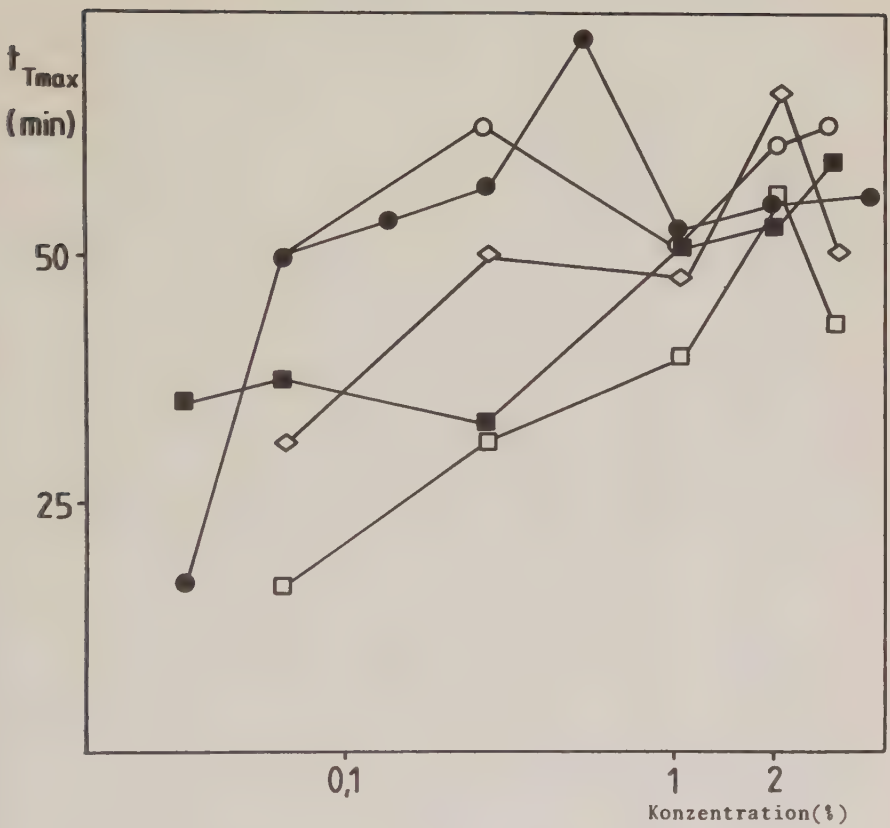


Abb. 13: Zeit bis zum Erreichen der maximalen Temperatur (t_{Tmax}) in Abhängigkeit von der eingesetzten Konzentration (logarithmische Auftragung), Nicotinsäurebenzylester in Vaseline
5 Versuchspersonen, Mittelwerte aus 2 - 4 Versuchen

Proband L
" A
" R
" T
" B

Tab. 4: Vergleich von 2 Konzentrationen (0,063 und 1%) Nicotinsäurebenzylester in Vaseline an 12 bzw. 13 Versuchspersonen mit allen Meßparametern

Meßparameter	Anzahl der Versuchspersonen	t	Bereich der Irrtums-wahrscheinlichkeit P	signifikanter Unterschied zwischen 0,063 und 1% für $P \leqq 0,05$
$1/t_R$	13	3,02	0,02>P>0,01	+
D_R	13	5,75	P<0,001	+
F_R	13	6,09	P<0,001	+
Tmax	13	5,06	P<0,001	+
$1/t_{Tmax}$	12	- 1,90	0,2>P>0,1	-
D_T	13	2,58	0,05>P>0,02	+
F/T	13	5,23	P<0,001	+

Reziproker Wert der Latenzzeit bis zum Auftreten eines sichtbaren Erythems ($1/t_R$)

Die Latenzzeit bis zum Eintritt der Rötung (t_R) ist innerhalb einer Zubereitung bei gleicher Aufnahmegeschwindigkeitskonstante umgekehrt proportional zum Ausmaß der aufgenommenen Arzneistoffmenge. Der Wirksamkeitsparameter $1/t_R$ ist demnach direkt konzentrationsabhängig, mit steigender Arzneistoffkonzentration steigt der reziproke Wert der Latenzzeit kontinuierlich an, er wird daher für die Vergleiche einschließlich der statistischen Berechnungen herangezogen. In der Praxis lassen sich jedoch die Zeiten bis zum Wirkungseintritt bei hohen Konzentrationen kaum mehr differenzieren. Dies bedingt einen der Dosis-Wirkungs-Kurve ähnlichen Kurvenverlauf. In Abb. 14 sind als Beispiel die reziproken Werte der Latenzzeit von 5 Probanden nach Applikation von Nitotinsäurebenzylestervaseline gegen die Logarithmen der eingesetzten Konzentration aufgetragen.

Beim Vergleich unterschiedlicher Zubereitungen mit gleicher Konzentration und gleichem Ausmaß der Bioverfügbarkeit steht $1/t_R$ in linearer Beziehung zur Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten: Mit steigenden Werten der Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten aus den entsprechenden Salben nimmt auch $1/t_R$ kontinuierlich zu (Abb. 15). Das Verhältnis der $1/t_R$-Werte zweier Zubereitungen ist von der Lage der minimalen Wirkkonzentration abhängig, eine quantitative Aussage über die Aufnahmegeschwindigkeiten ist demnach nicht möglich, der Parameter ermöglicht lediglich eine qualitative Zuordnung der Aufnahmegeschwindigkeiten zu den ge-

getesteten Salben.

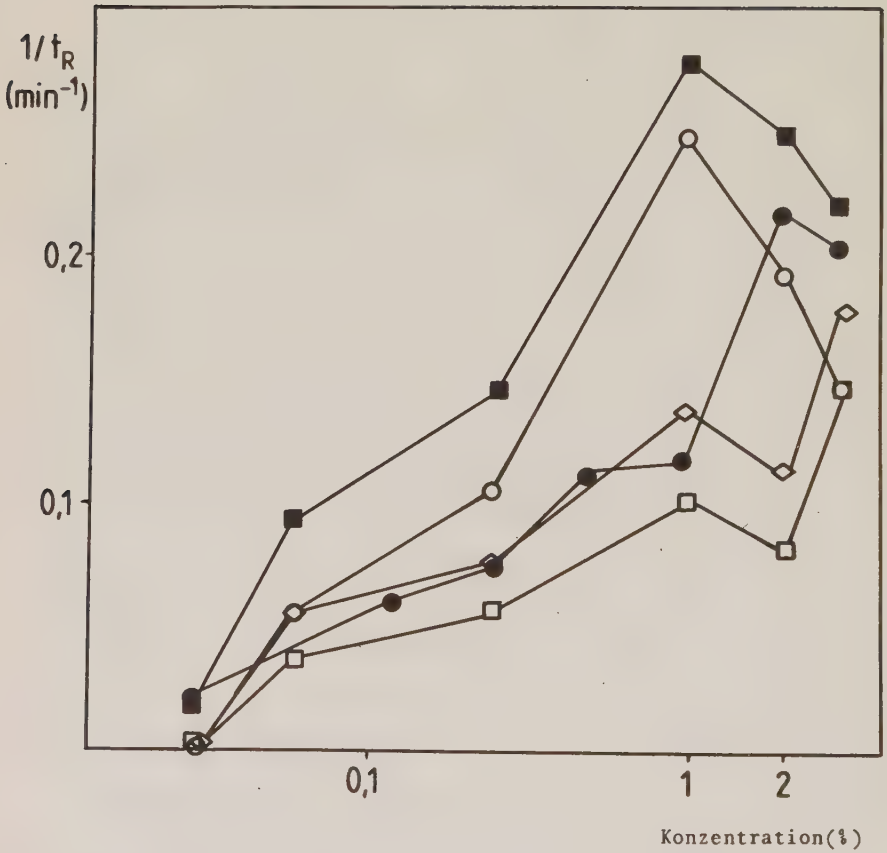


Abb. 14 : Reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung), Nicotinsäurebenzylester in Vaseline
5 Versuchspersonen, Mittelwerte aus 3 Versuchen

Proband L
" A
" R
" T
" B

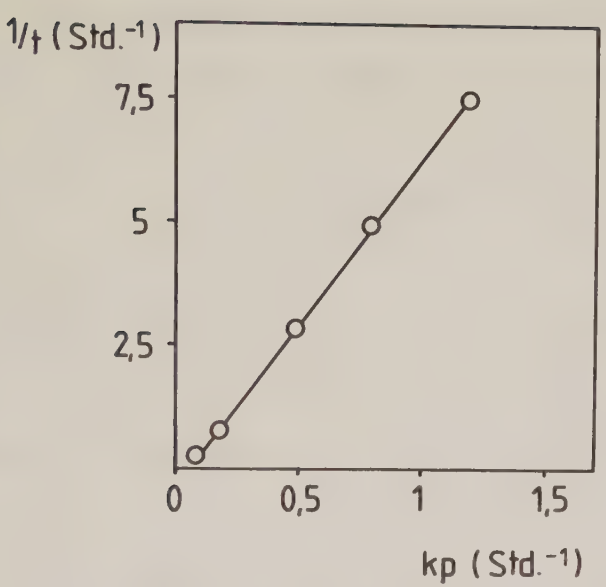


Abb. 15 : Reziproker Wert der Latenzzeit 1/t (z.B. $1/t_R$) für verschiedene Salbenzubereitungen mit unterschiedlichen Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten kp (0,1 - 1,2 Std.$^{-1}$) und gleicher Dosis (Arzneistoffkonzentration)
Die Latenzzeitwerte sind der Abb. 11 entnommen

3.3 Intensitäts/dauerbezogene Parameter

Fläche unter der Temperaturzunahme-Zeit-Kurve (F/T)

Die Fläche unter der Temperaturzunahme-Zeit-Kurve stellt eine zusammengesetzte Größe aus Intensität und Dauer der Wirkung (Temperaturerhöhung) dar. Bei der gleichen Salbengrundlage steigt zwar mit zunehmender Konzentration an Nicotinsäurebenzylester die Wirkungsintensität nur bis zu einem Maximum an (siehe dazu II.3.1, Tmax). Die Dauer dieser Wirkung und damit auch die Fläche unter der Temperaturzunahme-Zeit-Kurve läßt sich jedoch durch weitere Erhöhung der Konzentration (Dosis) noch steigern, so daß der Parameter F/T auch bei maximaler Temperaturerhöhung von der eingesetzten Konzentration abhängig bleibt (siehe Abb. 8 bzw. 8a).

In Abb. 16 sind die Flächen unter der Temperaturzunahme-Zeit-Kurve von 5 Probanden gegen die Logarithmen der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester aufgetragen. Sie verlaufen bis etwa 2% linear.Mit zunehmender Konzentration deutet sich bei allen Probanden bis auf Proband B eine Abnahme der Steigung an. Je nach Konzentrationsbereich für minimale bzw. maximale Wirkung von Tmax ist eine parabolische Beziehung zwischen F/T-Werten und Aufnahmegeschwindigkeit denkbar: Bei Zubereitungen mit steigender Aufnahmegeschwindigkeit resultieren zunächst auch steigende F/T-Werte. Es ist jedoch möglich, daß bei besonders hohen Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten die Hauttemperatur zwar relativ rasch steigt bzw. ihr Maximum erreicht wird, die Temperaturerhöhung aber nur kurz erhalten bleibt, so daß die F/T-Werte sogar wieder abfallen.

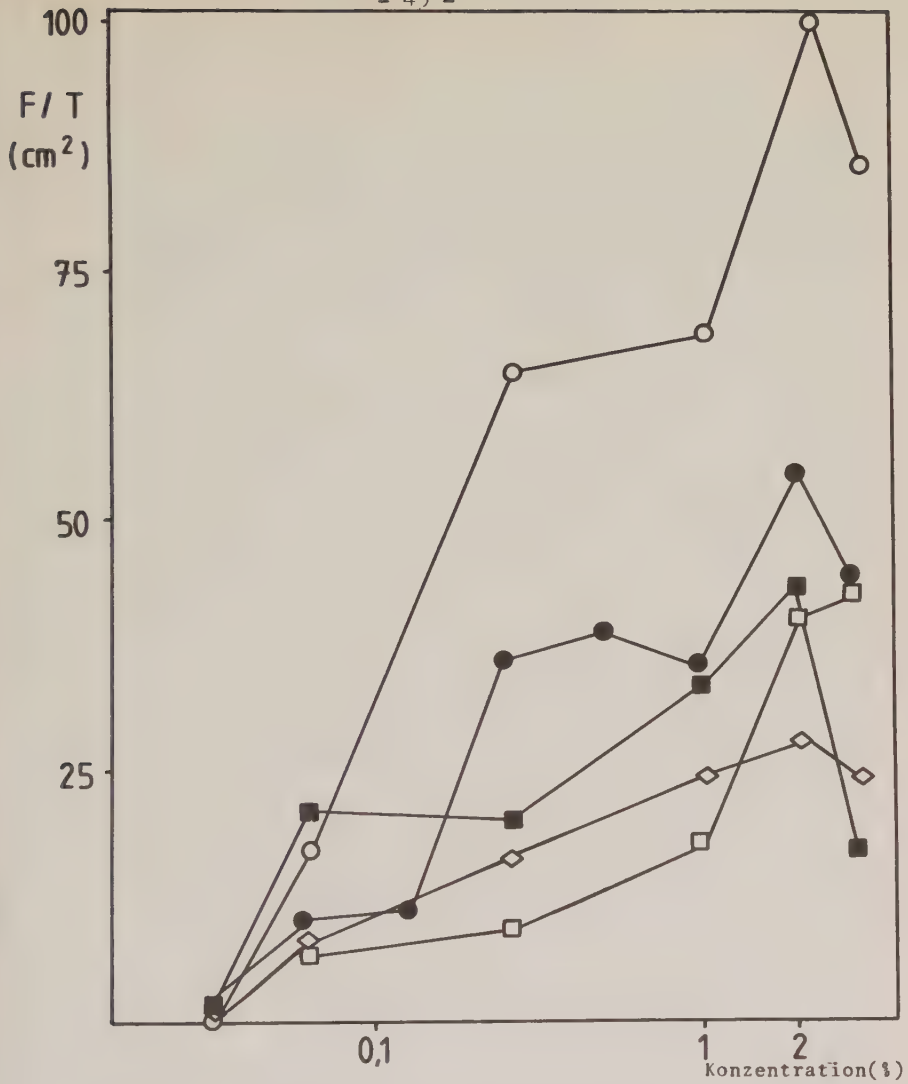


Abb. 16: Fläche unter der Temperaturzunahme-Zeit-Kurve (F/T) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung). Nicotinsäurebenzylester in Vaseline 5 Versuchspersonen, Mittelwerte aus 3 Versuchen

Proband L
" A
" R
" T
" B

Damit ergibt sich zusammenfassend:

Unter den in II.3 genannten Voraussetzungen stellt die Geschwindigkeit der Arzneistoffaufnahme das Kriterium für die Bioverfügbarkeit dar, sie läßt sich durch alle aufgeführten Meßparameter charakterisieren (Tab. 5). Über den Vergleich verschiedener Arzneistoffkonzentrationen innerhalb einer Zubereitung (gleiche Aufnahmegeschwindigkeitskonstante) wird zunächst die Abhängigkeit der gemessenen Wirkung von der eingesetzten Arzneistoffmenge bzw. Konzentration überprüft. Von den beschriebenen Meßparametern sind alle bis auf $1/t_{Tmax}$ konzentrationsabhängig. Bei den intensitätsbezogenen Wirksamkeitsparametern Tmax und F_R steigt die Wirkung nur bis zu einem maximalen Wert an. Damit ergeben sich für die entsprechenden Meßwerte in Abhängigkeit vom Logarithmus der Konzentration sigmoide Dosis-Wirkungs-Kurven, während für den intensitäts/dauerbezogenen Wirksamkeitsparameter F/T und die dauer- bzw. zeitbezogenen Parameter D_T, D_R und $1/t_R$ mit steigender Konzentration auch steigende Meßwerte resultieren. Über die Dauer des Effektes kann dabei unter bestimmten Voraussetzungen die Penetrationsgeschwindigkeitskonstante kp ermittelt werden.

Beim Vergleich verschiedener Zubereitungen bei gleicher Konzentration und gleichem Ausmaß der Bioverfügbarkeit sind die über die einzelnen Parameter gemessenen Wirkungen eine Funktion der Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten. Mit zunehmender Bioverfügbarkeitsgeschwindigkeit nehmen auch die Meßwerte mit den Parametern $1/t_{Tmax}$ und $1/t_R$ kontinuierlich zu. Bei den intensitätsbezogenen Wirksamkeitsparametern gilt dies nur für den steilen

Bereich der Dosis-Wirkungs-Kurve. Für alle Parameter, die die Dauer des Effektes enthalten (F/T, D_T, D_R) ist eine parabolische Abhängigkeit zu Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten möglich. Diese Zusammenhänge sind die Grundlage für die Beurteilung der Bioverfügbarkeit verschiedener Zubereitungen.

Tab. 5 : Überprüfung der Konzentrationsabhängigkeit der Wirkungen und Beurteilung der Geschwindigkeit der Arzneistoffaufnahme durch verschiedene Meßparameter

M = eingesetzte Arzneistoffmenge (Konzentration)

kp = Aufnahmegeschwindigkeitskonstante

	Aussage beim	
	Vergleich verschiedener Konzentrationen innerhalb einer Zubereitung, gleiche kp	Vergleich verschiedener Zubereitungen, gleiche Konzentration, gleiches Ausmaß der Bioverfügbarkeit
Tmax	f(M) +	f(kp)
F/R	f(M) +	f(kp)
F/T	f(M)	f(kp), parabolisch
D_T	f(M)	f(kp), parabolisch
D_R	f(M)	f(kp), parabolisch
$1/t_{Tmax}$	-	f(kp)
$1/t_R$	f(M)	f(kp)

+ Sigmoide Dosis-Wirkungs-Kurve

3.4 Inter- und Intraindividuelle Unterschiede

Die Wirkung des Nicotinsäurebenzylesters zeigt auch bei konstanten Versuchsbedingungen wie Temperatur und Luftfeuchtigkeit (siehe I.1. exp. Teil) beträchtliche intra- und interindividuelle Schwankungen.

Interindividuelle Unterschiede kommen z.B. in Abb. 17 und 18 zum Ausdruck. Hier sind die Variationsbreiten der Meßwerte bzw. transformierten Größen ($1/t_R$ bzw. F/T) für jede eingesetzte Nicotinsäurebenzylesterkonzentration eingezeichnet. Interindividuelle Schwankungen an 5 Versuchspersonen zeigen sich in Abb. 5, 7, 9, 10, 13, 14 und 16 am Beispiel von Vaseline. Sie treten bei allen Wirksamkeitsparametern auf. So werden etwa bei 1% Nicotinsäurebenzylester Temperaturerhöhungen von 0,9 - 2,4^{o}C gefunden (Abb. 5). Auch die Bereiche der minimalen Wirkkonzentration sind für die einzelnen Probanden verschieden (Abb. 27, 31, 32).

Bei den Zwei- und Einpunkttests (siehe II.5.) läßt sich für die einzelnen Meßparameter die relative Standardabweichung für die intra- und interindividuelle Streuung berechnen. Aus dem 2-Punkt-Test mit 9 Versuchspersonen ergibt sich, daß die Schwankungen für die maximale Temperaturerhöhung (Tmax) und dem damit verknüpften Wert D_T am niedrigsten, für die Flächenausbreitung des Erythems dagegen besonders groß sind.

Vergleicht man die untersuchten Salben, so fällt vor allem die Polyethylenglykolsalbe durch große Steuungen auf. Die relativen

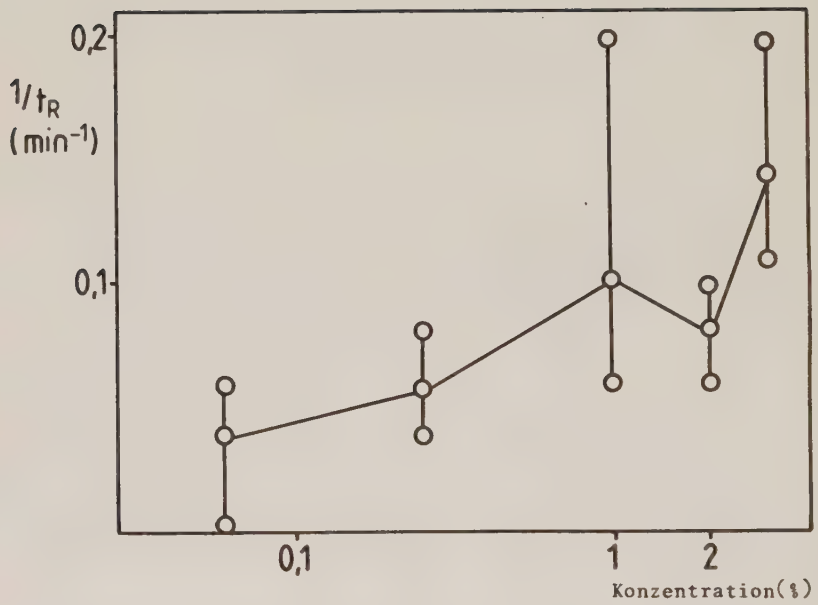


Abb. 17: Reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$) in Abhängigkeit von der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (logarithmische Auftragung)
Versuchsperson B
Für jede Konzentration sind die Mittelwerte (n = 3) sowie die beiden Extremwerte eingezeichnet

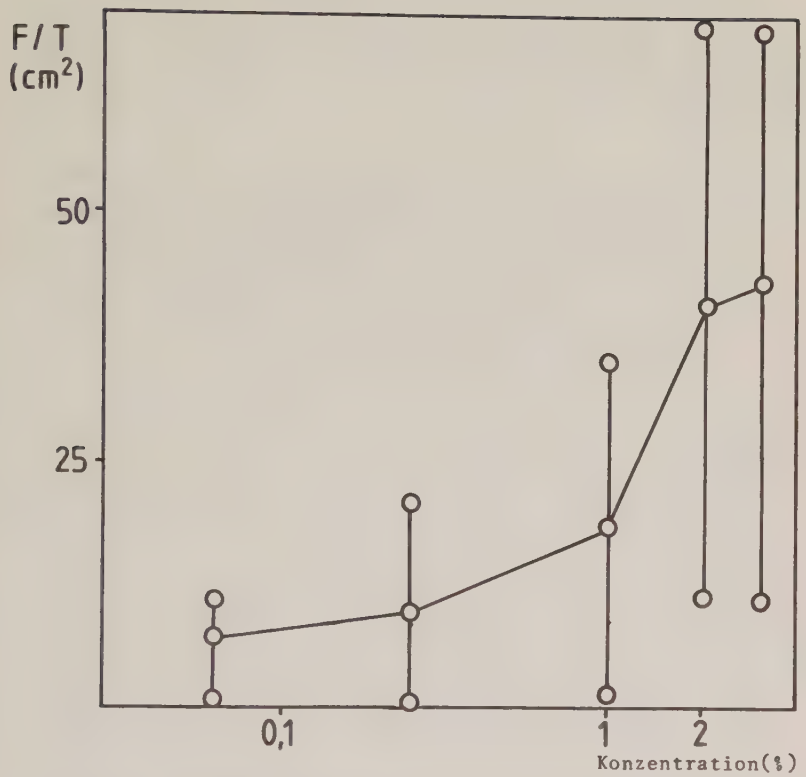


Abb. 18 : Fläche unter der Temperaturzunahme-Zeit-Kurve (F/T) in Abhängigkeit von der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (logarithmische Auftragung)
Versuchsperson B
Für jede Konzentration sind die Mittelwerte (n=3) sowie die beiden Extremwerte eingezeichnet

Standardabweichungen liegen zwischen 76 und 316% (Tab. 6). Dies dürfte zum Teil darauf zurückzuführen sein, daß die eingesetzten Konzentrationen für die Polyethylenglykolsalbe näher an der minimalen Wirkkonzentration liegen als bei den übrigen Grundlagen.

Tab. 6: Relative Standardabweichung in (%) für alle Meßparameter bei Vaseline (VAS), wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe (WALK), Polacrylatgel (PA), Salhumingel (SALHU) und Polyethylenglykolsalbe (PEG) 10 Versuchspersonen, 1% Nicotinsäurebenzylester (siehe Tab. 60; I.2.2.1, exp. Teil)

	Rötungsparameter			Temperaturparameter			
SALBEN-GRUNDLAGE	$1/t_R$	D_R	F_R	Tmax	$1/t_{Tmax}$	D_T	F/T
VAS	81	48	85	20	44	20	29
WALK	57	67	92	41	36	31	49
PA	63	69	139	47	36	40	60
SALHU	53	45	131	75	107	57	101
PEG	88	92	316	76	149	98	130

In Tab. 7 sind die relativen Standardabweichungen aus dem Ein-Punkt-Test mit 28 bzw. 58 Versuchspersonen für den Meßparameter $1/t_R$ und D_R aufgeführt [+]. Hier finden sich besonders

---

[+] Die Ausgangswerte erweisen sich nach Überprüfung mittels Wahrscheinlichkeitspapier als normalverteilt.

bei solchen Salben, bei denen die angewandte Konzentration (0,125%) zum Teil noch keine Reaktion hervorruft, hohe Standardabweichungen: bei der Wachssalbe, der Mikroemulsion und den Polyethylenglykolsalben. Die etwas stärkere Streuung bei der Dauer der Rötung ist auch darauf zurückzuführen, daß das Ende der Rötung nicht sehr scharf gemessen werden kann.

Tab. 7: Relative Standardabweichungen für die Meßparameter $1/t_R$ und D_R bei verschiedenen Salben
28 bzw. 58 Versuchspersonen, 0,125% Nicotinsäurebenzylester

		relative Standardabweichung (%)		
Grundlage	n	$1/t_R$	n	D_R
VAS	58	48	28	81
PS	"	72	-	-
KS	"	101	28	120
ALK	"	46	"	72
WALK	"	47	"	80
HS	"	56	"	59
WHS	"	50	"	65
ME	"	174	"	355
PA	"	60	"	61
SALHU	28	51	"	66
PEG	58	240	"	345
PEGW	28	287	-	-

4. Wirkungsvergleich über die gesamte Konzentrations-Wirkungs-Kurve

4.1 Alle Meßparameter, 5 Probanden

An 5 Versuchspersonen wird die Wirksamkeit von Nicotinsäurebenzylester anhand aller Meßparameter (II.2.2.2) in Abhängigkeit von der Konzentration entweder in Polyacrylatgel, Polyethylenglykolsalbe, Mikroemulsion, wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe oder Salhumin Gel getestet. Jede Versuchsperson mißt dazu eine entsprechende Konzentrationsreihe in Vaseline (Standard). Damit sollten aufgefundene Unterschiede trotz der kleinen Probandenzahl bereits eine gewisse Verallgemeinerung zulassen.

Maximale Temperaturerhöhung (Tmax)

Die experimentell ermittelten maximalen Temperaturerhöhungen sind in Abb. 19 - 23 gegen die Logarithmen der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester aufgetragen. Die erhaltenen Kurven werden hinsichtlich Gesamtverlauf, minimaler Wirkkonzentration, Plateauwert und ED_{50}-Wert verglichen. Der für intensitätsbezogene Wirksamkeitsparameter zu erwartende symmetrisch sigmoide Verlauf (siehe II.3.1) läßt sich in der Mehrzahl der Fälle erkennen. So zeigen die Dosis-Wirkungs-Kurven für wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (Abb. 19), Salhumin Gel (Abb. 20) und Polyacrylatgel (Abb. 21) und 4 der 5 Kurven für Vaseline (Abb. 19-23) annähernd einen solchen Verlauf. Im Falle der Polyethylenglykolsalbe (Abb. 22) und der Mikroemulsion (Abb. 23) läßt sich im untersuchten Konzentrationsbereich kein sigmoider Kurvenverlauf erkennen: Bis zu einer Konzentration von 3% steigen die Kurven

unvermindert an. Es ist aber davon auszugehen, daß bei höheren Konzentrationen ein Plateau erreicht wird. Insgesamt ergibt sich bei der Beurteilung der Kurven im Vergleich zu Vaseline für die wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe eine ähnliche Temperaturerhöhung über den gesamten Konzentrationsbereich (0,015 - 3%). Salhumin Gel und Polyacrylatgel bewirken eine etwas stärkere Temperaturerhöhung, wobei Salhumin Gel oberhalb von 0,125% nicht mehr von der Vaseline zu unterscheiden ist. Die Mikroemulsion und vor allem die Polyethylenglykolsalbe erreichen gegenüber vergleichbaren Konzentrationen in Vaseline nur eine geringere Temperaturerhöhung: Die Dosis-Wirkungs-Kurven dieser beiden Grundlagen sind in den Bereich höherer Konzentration verschoben.

Der Einfluß der untersuchten Salbengrundlagen macht sich auch in der Erniedrigung bzw. Erhöhung der minimalen Wirkkonzentration im Vergleich zur Vaseline bemerkbar. Um mit der Polyethylenglykolsalbe oder der Mikroemulsion eine meßbare Temperaturerhöhung zu erzielen, ist eine höhere Konzentration einzusetzen. Im Gegensatz dazu setzt die Wirkung bei den Hydrogelgrundlagen Polyacrylatgel und Salhumin Gel schon bei niedrigeren Konzentrationen als bei Vaseline ein. Für die wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und die entsprechende Vaseline (Abb. 19) läßt sich die minimale Wirkkonzentration mit den vorliegenden Meßwerten nicht eindeutig eingrenzen.

Als Differenzkurve zu der entsprechenden Vaseline können die Tmax-Werte für alle Probanden und Zubereitungen in einer Abbildung zusammengefaßt werden (Abb. 24). Diese Differenzkurve, in

der die absoluten Wirkungsdifferenzen zur Vaseline für die entsprechenden Konzentrationen aufgetragen sind und die damit auch die interindividuellen Unterschiede enthält, läßt sich ebenfalls in Prozent des entsprechenden Vaselinewertes darstellen. Dabei werden die interindividuellen Unterschiede über die Vaseline als Bezugsgröße weitgehend eliminiert. Bei gleicher absoluter Wirkungsdifferenz verändert sich die prozentuale Differenz in Abhängigkeit vom Bezugswert Vaseline. Bei hohen Vaselinewerten werden die prozentualen Wirkungsdifferenzen daher kleiner und die Kurve der Testzubereitung nähert sich der 0% - Achse. Im unteren Konzentrationsbereich wirken sich die Streuungen übermäßig stark aus (Abb. 25). In beiden Abbildungen wird erneut die deutlich schlechtere Wirkung bzw. geringere Temperaturerhöhung nach Applikation von Polyethylenglykolsalbe und Mikroemulsion im Vergleich zum Standard Vaseline erkennbar.
Auf Grund der besseren Übersichtlichkeit wird die einfache Differenzkurve im folgenden ausschließlich zur Beurteilung der Wirkungsunterschiede bei den übrigen Meßparametern herangezogen (Meßwerte siehe exp. Teil, I.2.1.1).

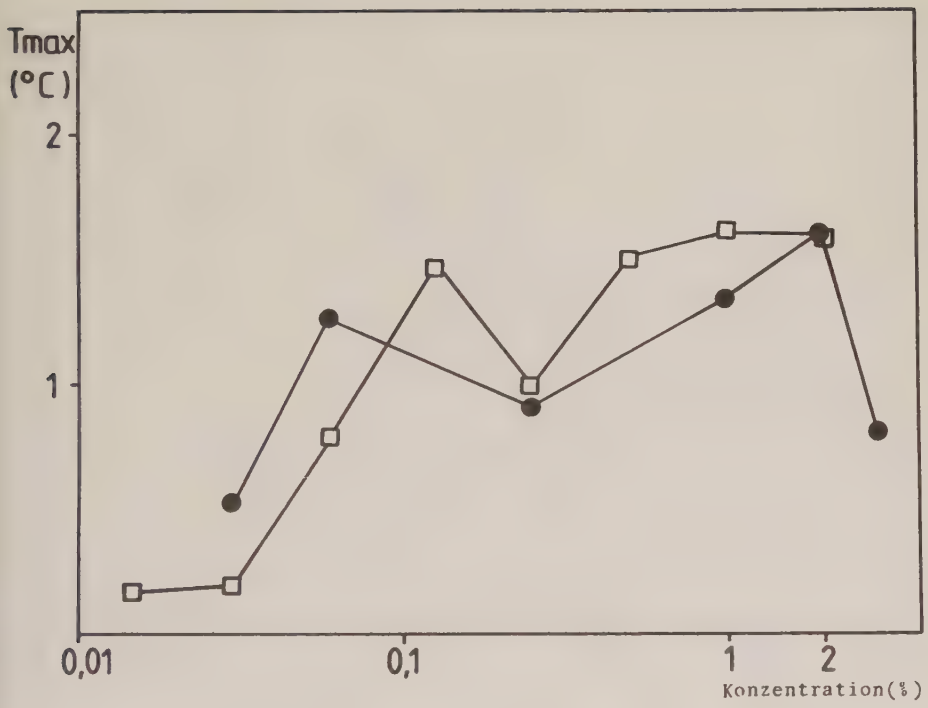


Abb. 19: Maximale Temperaturerhöhung (Tmax) in Abhängigkeit von der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester (logarithmische Auftragung)
Versuchsperson (L), Mittelwerte aus 3 Versuchen

—●— Vaseline

—□— wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe

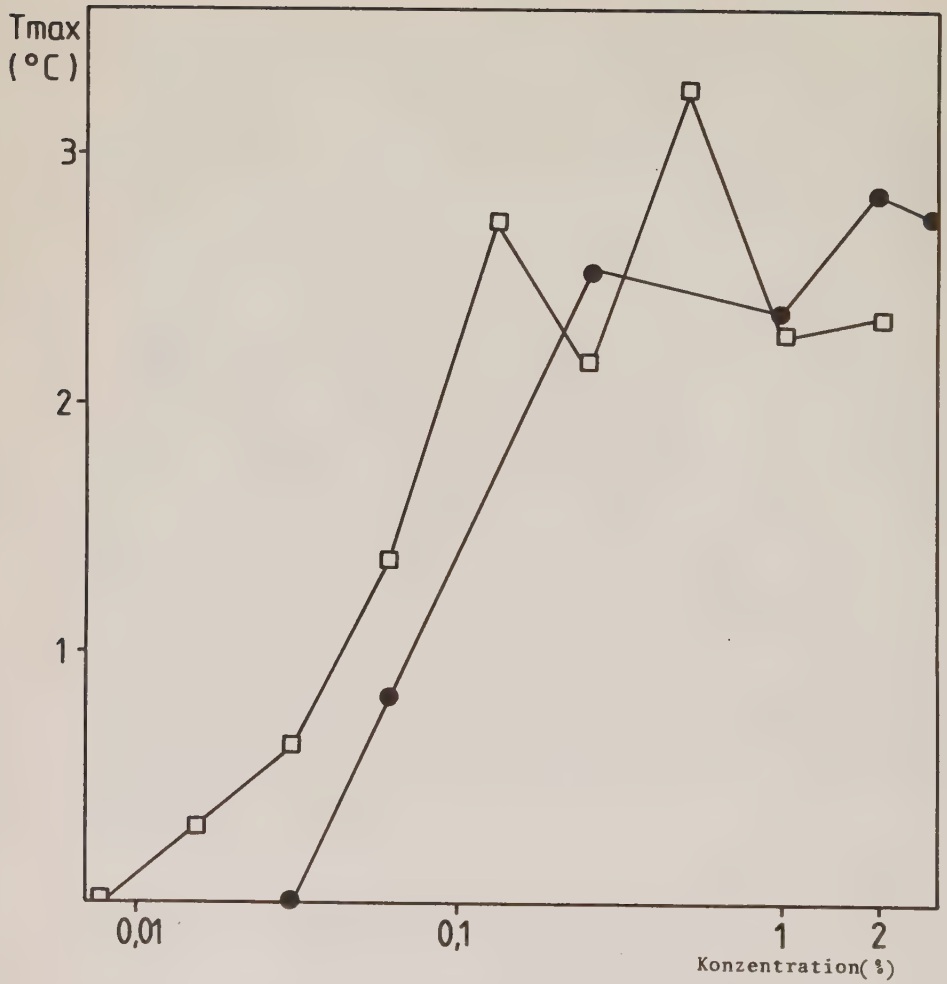


Abb. 20: Maximale Temperaturerhöhung (Tmax) in Abhängigkeit von der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester (logarithmische Auftragung)
Versuchsperson (R), Mittelwerte aus 3 Versuchen

—●— Vaseline

—□— Salhumin Gel

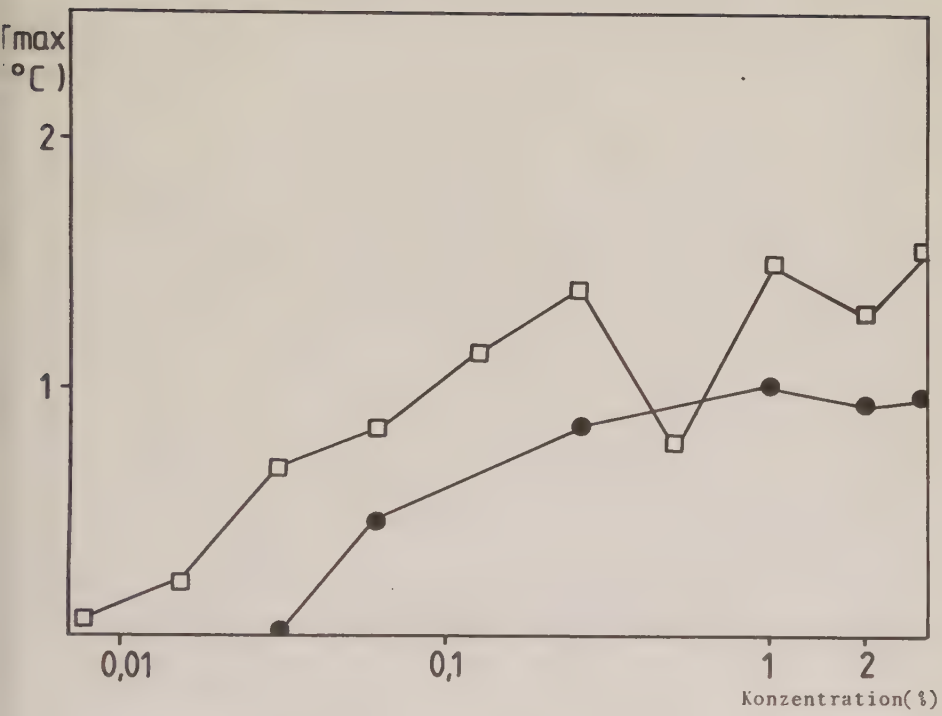


Abb. 21: Maximale Temperaturerhöhung (Tmax) in Abhängigkeit von der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester (logarithmische Auftragung)
Versuchsperson (A), Mittelwerte aus 3 Versuchen

—●— Vaseline

—□— Polyacrylatgel

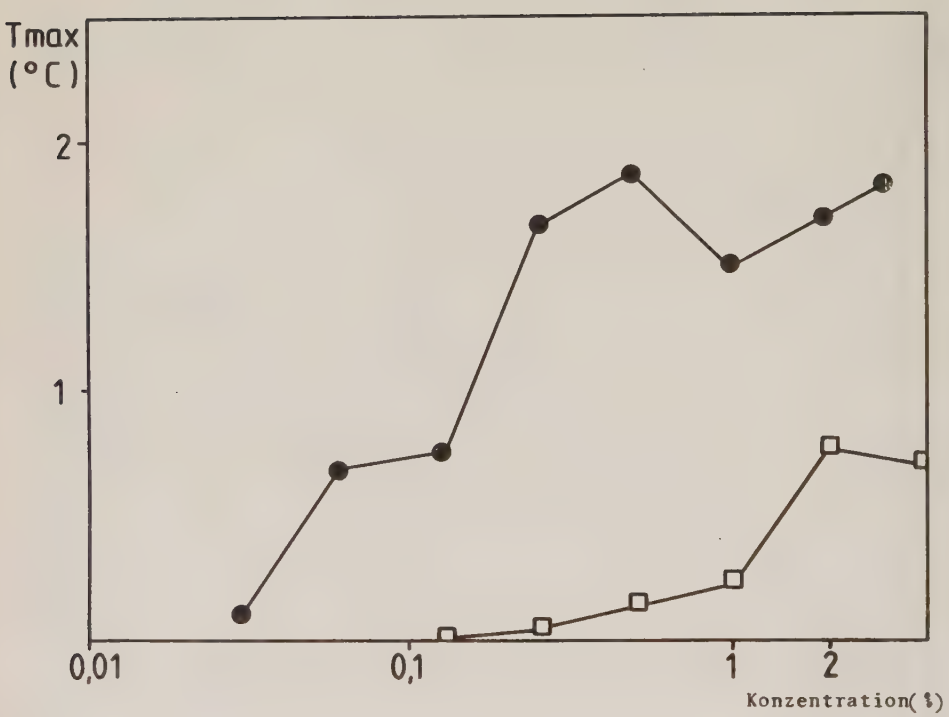


Abb. 22 : Maximale Temperaturerhöhung (Tmax) in Abhängigkeit von der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester (logarithmische Auftragung)
Versuchsperson (T), Mittelwerte aus 3 Versuchen

—●— Vaseline

—□— Polyethylenglykolsalbe

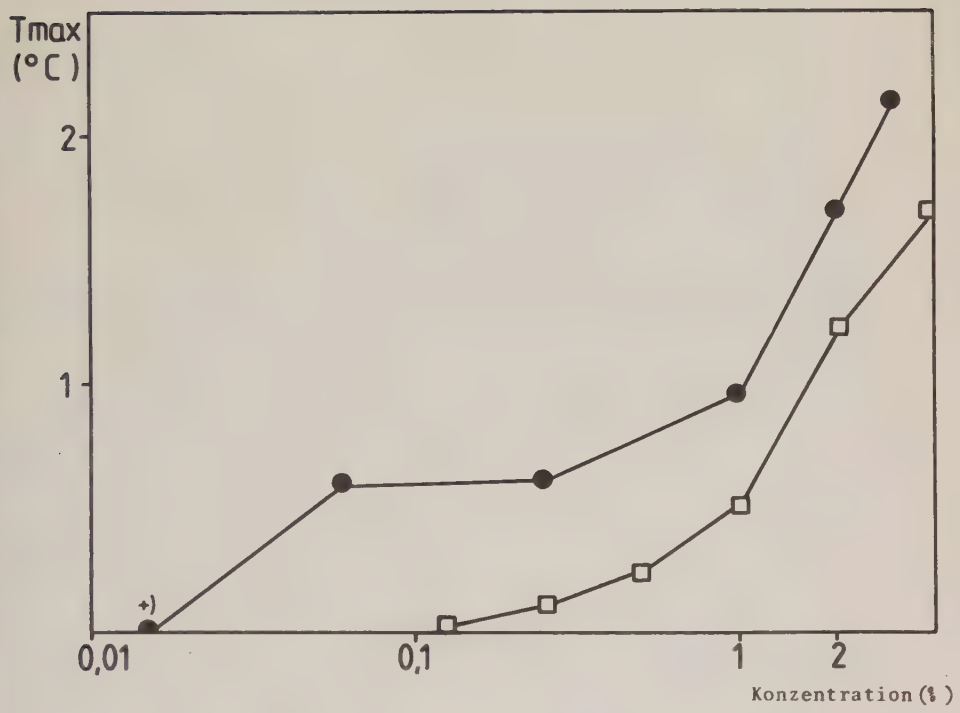


Abb. 23: Maximale Temperaturerhöhung (Tmax) in Abhängigkeit von der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester (logarithmische Auftragung)
Versuchsperson (B), Einzelwert +) bzw. Mittelwerte aus 3 Versuchen

—●— Vaseline

—□— Mikroemulsion

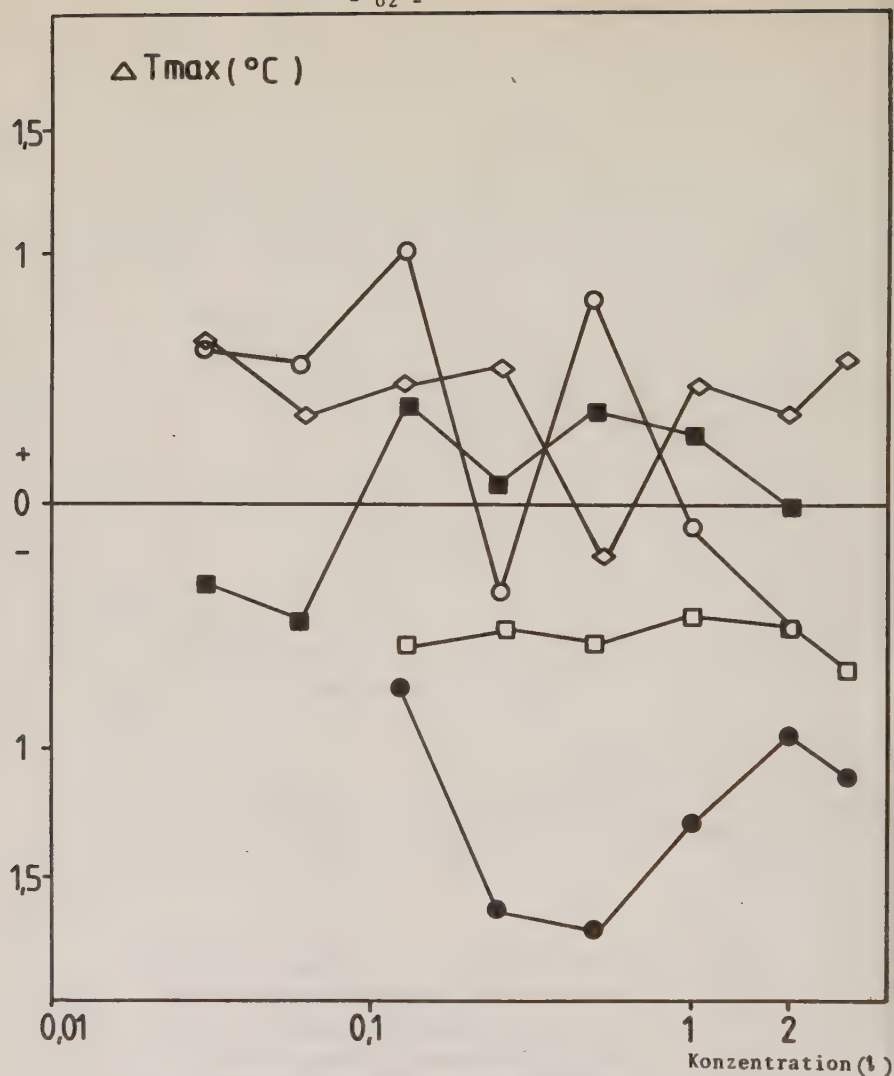


Abb. 24: Maximale Temperaturerhöhung als Differenz Δ Tmax zu den entsprechenden Vaselinewerten (Standard) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung)
Mittelwerte aus 3 Versuchen

Proband	Grundlage
L	Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe
A	Polyacrylatgel
R	Salhumin Gel
T	Polyethylenglykolsalbe
B	Mikroemulsion

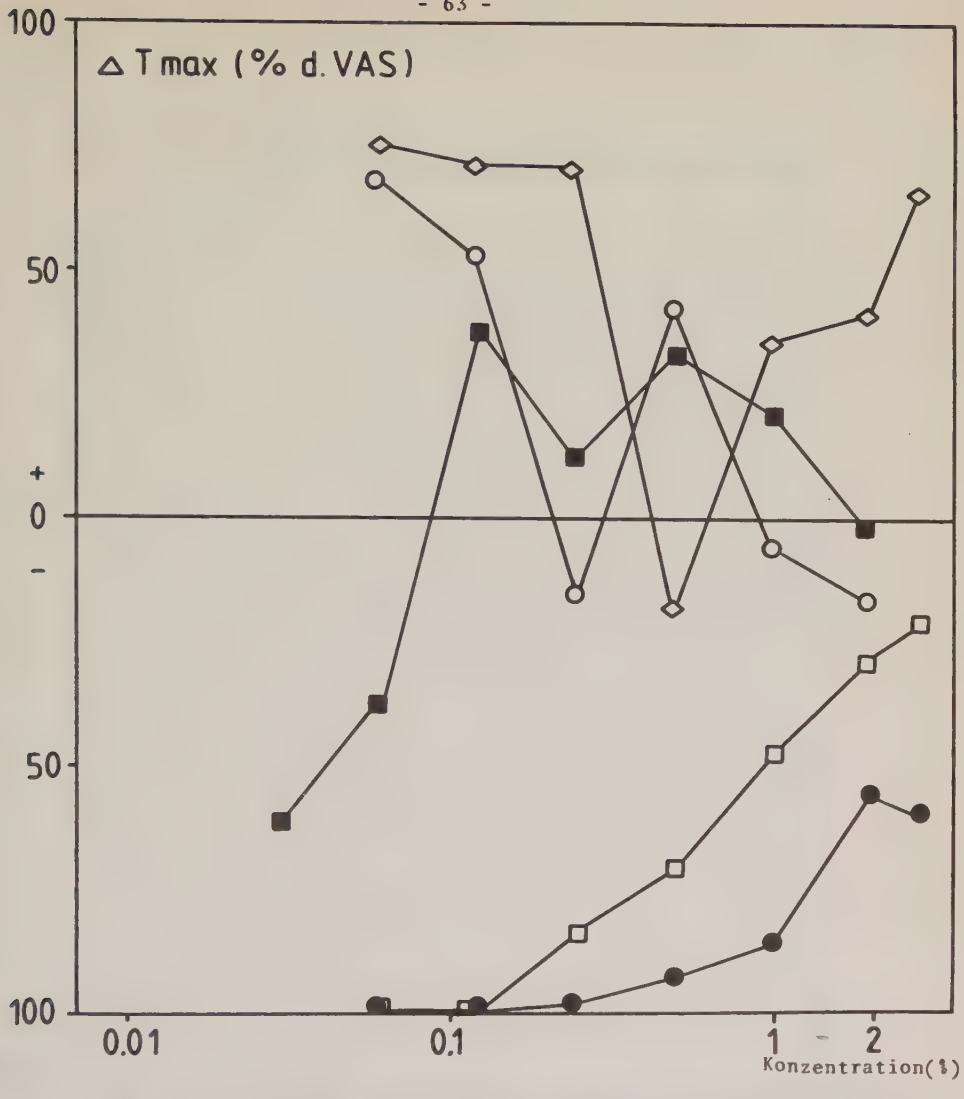


Abb. 25 : Differenz der maximalen Temperaturerhöhung zum Standard Vaseline Δ Tmax in % des entsprechenden Vaselinewertes in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung)
Mittelwerte aus 3 Versuchen

Proband	Grundlage
L	Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe
A	Polyacrylatgel
R	Salhumin Gel
T	Polyethylenglykolsalbe
B	Mikroemulsion

In Tab. 8 sind die ED_{50}-Werte für die maximale Temperaturerhöhung (Tmax) aufgeführt. Nach dem in II.1.2 beschriebenen Verfahren läßt sich daraus die relative intensitätsbezogene Bioverfügbarkeit berechnen. Ausgehend vom gleichen Ausmaß der Bioverfügbarkeit nach Applikation von Salben ergibt sich durch Division der ED_{50}-Werte der Standardzubereitung (Vaseline) mit dem ED_{50}-Wert der entsprechenden Testzubereitung die relative Geschwindigkeit der Arzneistoffaufnahme bzw. der relative intensitätsbezogene Bioverfügbarkeitsfaktor f_I (Tab. 9). Für die Mikroemulsion und vor allem für die Polyethylenglykolsalbe resultiert eine deutlich langsamere Aufnahmegeschwindigkeit. Polyacrylatgel dagegen bewirkt eine beschleunigte Arzneistoffaufnahme, dies gilt in abgeschwächter Form auch für Salhumin Gel. Für die wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und Vaseline ist der Vergleich der ED_{50}-Werte nicht erlaubt, da die nach Logittransformation erhaltenen Geraden für die beiden Grundlagen signifikant unterschiedliche Steigungen aufweisen (exp. Teil, Tab. 54). Bei der quantitativen Beurteilung der gefundenen Unterschiede in den Aufnahmegeschwindigkeiten sind die Probleme bei der Bestimmung der ED_{50}-Werte in Betracht zu ziehen (exp. Teil, I.2.1.2). Man kann jedoch davon ausgehen, daß damit die Rangfolge der Grundlagen hinsichtlich ihrer biopharmazeutischen Qualität erkennbar wird .Für die aus der Dauer der Rötung nach Levy berechneten Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten ergibt sich eine ähnliche Rangfolge (II.3.2).

Tab. 8: ED_{50}-Werte für die maximale Temperaturerhöhung (Tmax) aus den transformierten Dosis-Wirkungs-Kurven

Proband	L		A		R		T		B	
Grundlage ED_{50} (% Nicotinsäurebenzylester)	VAS	WALK[+]	VAS	PA	VAS	SALHU	VAS	PEG	VAS	ME
	0,04	0,09	0,49	0,11	0,2	0,11	0,18	5,0	0,3	1,8

[+] Dosis-Wirkungs-Kurve nicht parallel

Tab. 9: Relative intensitätsbezogene Bioverfügbarkeitsfaktoren f_I bzw. relative Geschwindigkeiten der Arzneistoffaufnahme (Standard Vaseline = 1)

Grundlage	Proband	f_I
WALK	L	- [+]
PA	A	4,5
SALHU	R	1,8
PEG	T	0,04
ME	B	0,2

[+] Vergleich ist nicht erlaubt (siehe exp.Teil Tab. 54)

Prozentuale Flächenzunahme des Erythems (F_R)

Mit Vaseline als Salbengrundlage ist die prozentuale Flächenzunahme des Erythems in Abhängigkeit von den Logarithmen der Konzentration für alle Probanden in Abb. 6 dargestellt. Die Flächenausbreitung nimmt mit steigender Konzentration zu, bei 1% Nicotinsäurebenzylester liegen die Werte von 5 Probanden in einem Bereich von 17% - 94% der Ausgangsfläche.

In Abb. 26 sind die prozentualen Flächenzunahmen des Erythems als Differenz zu den entsprechenden Vaselinewerten (Standard) gegen die Logarithmen der Konzentration aufgetragen. Die eingezeichnete Grundlinie bei 0% entspricht den Vaselinewerten des jeweiligen Probanden. Im Vergleich zu Vaseline ergibt sich für die wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe ähnliches Verhalten, lediglich bei höheren Nicotinsäurebenzylesterkonzentrationen ist die Erythemausbreitung etwas schwächer ausgeprägt. Die beiden Hydrogele Polyacrylatgel und Salhumin Gel zeigen gegensätzliches Verhalten. Während Polyacrylatgel bei Proband A ab einer Konzentration von 0,063% - 1% Nicotinsäurebenzylester im Vergleich zur Vaseline eine deutliche Flächenzunahme bewirkt, liegt Salhumin Gel in diesem Bereich unterhalb der Vaseline. Bei 2% bewirken dann beide Gele eine etwa gleiche Flächenausbreitung, die allerdings nicht ganz die der Vaseline erreicht. Die starken Schwankungen dieses Meßparameters werden offensichtlich durch die Hydrogelgrundlage noch verstärkt. Die Mikroemulsion zeigt beginnend mit einer Konzentration von 0,5% eine geringere Flächenausbreitung als Vaseline. Im Falle der Polyethylenglykolsalbe bleibt das Erythem im gesamten untersuchten

Konzentrationsbereich auf die Ausgangsfläche beschränkt, d.h. es findet im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Grundlagen keine meßbare Flächenzunahme statt. Damit nimmt ΔF_R zunehmend negative Werte an.

In Abb. 27 sind die Bereiche der minimalen Wirkkonzentrationen für den Meßparameter F_R aufgetragen. Um das Erythem über die Applikationsfläche hinaus zu vergrößern, sind bei allen Probanden und Salben höhere Konzentrationen einzusetzen als zum Erreichen einer Temperaturerhöhung oder einer Hautrötung, z.B. 0,063%-0,25% für F_R bei Vaseline gegenüber < 0,031% für die Dauer der Rötung (Proband L). Diese Verschiebung der minimalen Wirkkonzentration beim Meßparameter F_R ergibt sich aus der Tatsache, daß sich das Erythem erst dann über die Applikationsfläche hinaus ausbreiten kann, wenn dort bereits eine Wirkung (Rötung, Temperaturerhöhung) aufgetreten ist.

Hinsichtlich der Differenzierung zwischen den einzelnen Salbengrundlagen ergeben sich deutliche Unterschiede: Die Flächenausbreitung der Vaseline bei den Probanden L und R beginnt in einem Konzentrationsbereich zwischen 0,063% und 0,25%, ähnlich verhält sich wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe. Dies entspricht auch dem Gesamtverhalten der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe (Abb. 26 und 27). Im Falle des Polyacrylatgels liegt die minimale Wirkkonzentration niedriger als bei Vaseline. Für Salhumin Gel ist dagegen eine höhere minimale Wirkkonzentration erforderlich (0,25%). Bei Polyethylenglykolsalbe liegt die Schwellenkonzentration offensichtlich oberhalb des untersuchten Konzentrationsbereiches (26). Die minimale Wirkkonzentration der Mikroemulsion gleicht der der Vaseline.

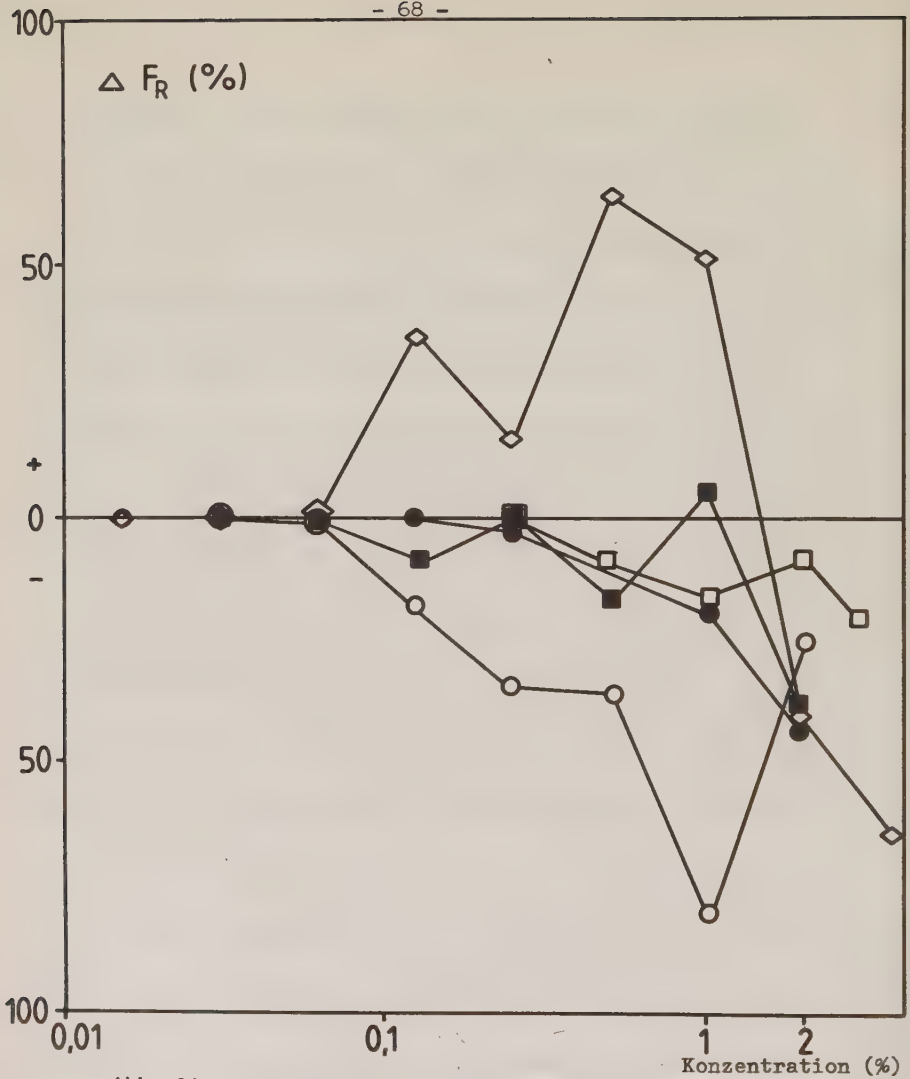


Abb. 26: Prozentuale Flächenzunahme des Erythems als Differenz Δ F_R (%) zu den entsprechenden Vaselinewerten (Standard) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung)
Mittelwerte aus 3 Versuchen

Proband	Grundlage
L	Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalb
A	Polyacrylatgel
R	Salhumin Gel
T	Polyethylenglykolsalbe
B	Mikroemulsion

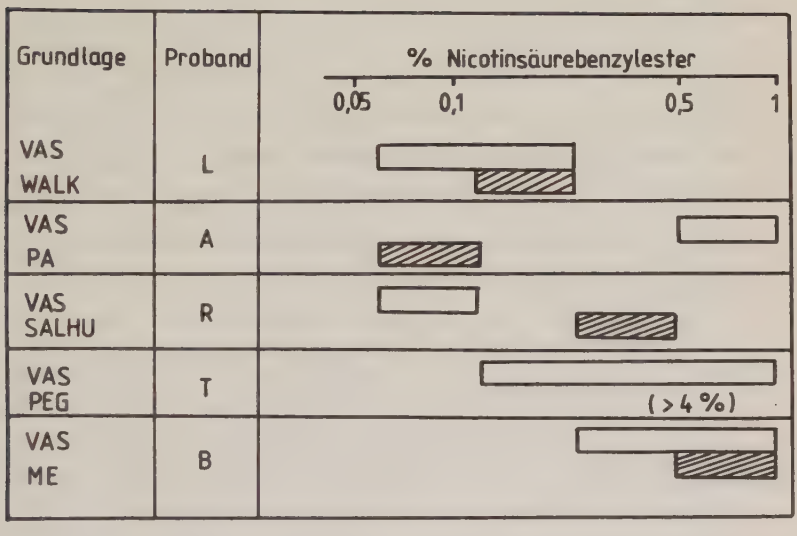


Abb. 27: Bereiche der minimalen Wirkkonzentration für den Meßparameter F_R von Vaseline (VAS) als Standard und den Testgrundlagen wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (WALK), Polyacrylatgel (PA), Salhumin Gel (SALHU), Polyethylenglykolsalbe (PEG) und Mikroemulsion (ME)

Fläche unter der Temperaturzunahme/Zeit-Kurve (F/T)

In Abb. 16 sind die Flächen unter der Temperaturzunahme/Zeit-Kurve für Vaseline bei allen 5 Probanden gegen die Logarithmen der Konzentration aufgetragen. Der steile Bereich erstreckt sich von 0,031% - 2%. Dieses Verhalten zeigt sich auch bei wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe, Polyacrylatgel und Salhumin Gel, während die steilen Bereiche der Polyethylenglykolsalbe und der Mikroemulsion deutlich zu höheren Konzentrationen verschoben sind.

Bei den Testgrundlagen wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und Salhumin Gel steigen die absoluten Meßwerte ab einer Konzentration von 0,5% nur noch langsam an. Auch bei der Polyethylenglykolsalbe ist bei einer Konzentration > 2% keine Steigerung der Wirksamkeit zu erkennen; die Werte liegen jedoch deutlich unter denen der Vaseline. Bei Polyacryatgel und Mikroemulsion ist im untersuchten Konzentrationsbereich bis 4% kein Plateau zu erkennen.

In Abb. 28 sind die Flächen unter den Temperaturzunahme/Zeit-Kurven als Differenzkurven zu den entsprechenden Vaselinewerten gegen die Logarithmen der Konzentration aufgetragen. Insgesamt ergibt sich im Vergleich zur Vaseline für die wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und Polyacrylatgel ein ähnlicher Kurvenverlauf (bei Polyacrylatgel erst ab 0,25%). Bis zu einer Konzentration von 0,25% wirkt Polyacrylatgel stärker als Vaseline. Dies gilt auch für Salhumin Gel, das allerdings bei höheren

Konzentrationen eine deutlich geringere Wirksamkeit als Vaseline zeigt. Die Flächen unter der Temperaturzunahme/Zeit-Kurve der Mikroemulsion und vor allem der Polyethylenglykolsalbe sind im gesamten untersuchten Konzentrationsbereich kleiner als die der Vaseline.

Die minimale Wirkkonzentration der Vaseline ist bei allen 5 Probanden in einem Bereich zwischen 0,015 und 0,063 % zu finden (Abb. 31). Die minimale Wirkkonzentration der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe liegt in etwa im gleichen Bereich. Mit Salhumin Gel und besonders mit Polyacrylatgel läßt sich im Gegensatz dazu schon bei niedrigeren Konzentrationen (PA 0,008%) eine Temperaturzunahme erreichen. Bei der Polyethylenglykolsalbe und der Mikroemulsion dagegen wird etwa die zweifache Dosis gegenüber Vaseline benötigt, um eine meßbare Wirkung zu erzielen.

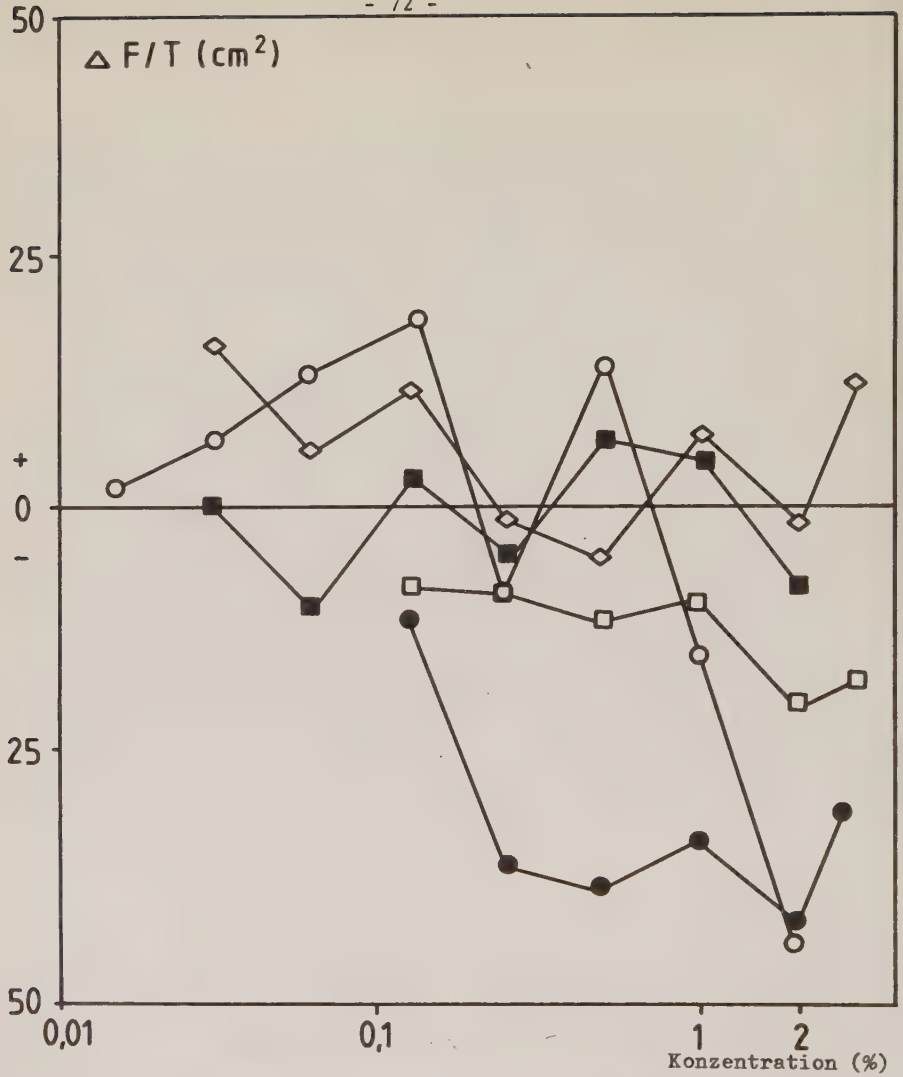


Abb. 28: Fläche unter der Temperaturzunahme-Zeit-Kurve als Differenz Δ F/T zu den entsprechenden Vaselinewerten (Standard) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung)

Mittelwerte aus 3 Versuchen

Proband	Grundlage
L	Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe
A	Polyacrylatgel
R	Salhumin Gel
T	Polyethylenglykolsalbe
B	Mikroemulsion

Dauer der Temperaturerhöhung (D_T) und Dauer der Rötung (D_R)

In Abb. 9 und 10 sind Dauer der Temperaturerhöhung bzw. Dauer der Rötung für Vaseline bei allen Versuchspersonen in Abhängigkeit vom Logarithmus der Konzentration dargestellt. Die steilen Bereiche der Dosis-Wirkungs-Kurven liegen zwischen 0,031 und 2% Nicotinsäurebenzylester. Dies gilt auch für die wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, während die steilen Bereiche der Hydrogele Polyacrylatgel und Salhumin Gel zu niedrigeren und die der Mikroemulsion und der Polyethylenglykolsalbe zu höheren Konzentrationen verschoben sind.

In Abb. 29 und 30 sind die Dauer der Temperaturerhöhung bzw. der Rötung als Differenzkurve zu den entsprechenden Vaselinewerten gegen die Logarithmen der Konzentration aufgetragen. Bei der Dauer der Temperaturerhöhung ergibt sich für die wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe kein Unterschied zur Vaseline. Polyacrylatgel und Salhumin Gel bewirken im Konzentrationsbereich von 0,015% -0,25% eine länger anhaltende Temperaturerhöhung, wobei die Differenzen zur Vaseline bis 0,125% nahezu gleich sind. Bei höheren Konzentrationen erfolgt Angleichung an Vaseline, bei Salhumin Gel deutet sich sogar kürzere Temperaturerhöhung an. Die Mikroemulsion und vor allem Polyethylenglykolsalbe erreichen im gesamten untersuchten Konzentrationsbereich nicht die Wirkungsdauer der Vaseline.

Im Falle der Dauer der Rötung bewirkt die wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe im Vergleich zur Vaseline bis 0,25% eine

Verlängerung der Rötungsdauer, danach werden kürzere Rötungszeiten gemessen, die erst bei 2% wieder das Vaseline-Niveau erreichen. Polyacrylatgel liegt bis 2% über der Vaseline, Salhumin Gel zeigt dieses Verhalten nur bis 0,063%, danach streuen die Meßpunkte im Bereich der Vaseline. Die Dauer der Rötung wird bei Anwendung der Mikroemulsion (bis 2%) und der Polyethylenglykolsalbe (bis 3%) deutlich vermindert.

Sowohl für den Temperaturparameter D_T als auch für den Hautrötungsparameter D_R ergeben sich nahezu identische Bereiche für die minimale Wirkkonzentration (Abb. 31). Im Vergleich zur Vaseline setzt mit Polyacrylatgel und Salhumin Gel schon bei wesentlich geringeren Konzentrationen eine meßbare Wirkung ein. Bei der Mikroemulsion und der Polyethylenglykolsalbe sind dagegen deutlich höhere Konzentrationen an Nicotinsäurebenzylester anzuwenden um eine Wirkung zu erzielen. Dies gilt besonders für die Mikroemulsion bei der Dauer der Rötung.

Die von Levy (55) vorgeschlagene Gl. 14 zur Berechnung der Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten (II.3.2) wird von den experimentellen Werten der Rötungsdauer im allgemeinen besser erfüllt als von der Dauer der Temperaturerhöhung. Hier ergibt sich in einigen Fällen bei höheren Konzentrationen eine Abweichung vom linearen Verlauf der Dosis-Wirkungs-Kurve. Die kp-Werte nach Gl. 14 werden daher zunächst über die Dauer der Rötung berechnet (Tab. 10). Dabei ergeben sich Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten für die Penetration zwischen 0,26 $Std.^{-1}$ für die Mikroemulsion und 0,68 für Polyacrylatgel und somit Halbwertszeiten zwischen 2,6 und einer Stunde. Im Einklang mit den Ergebnissen aus anderen Meßparametern zeigt sich im

Vergleich zur Vaseline für Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe eine niedrigere und für wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, Polyacrylatgel und Salhumin Gel eine höhere Arzneistoffaufnahmegeschwindigkeit. Über die Dauer der Temperaturerhöhung wird zwar eine ähnliche Reihenfolge der Aufnahmegeschwindigkeiten erhalten, die ermittelten Konstanten sind jedoch um eine Zehnerpotenz größer. Dieser Sachverhalt könnte bedeuten, daß die für Gl. 14 geforderten Voraussetzungen nicht erfüllt sind. So wäre denkbar, daß der Abtransport des Wirkstoffes vom Rezeptor nicht schnell im Vergleich zur Penetration erfolgt oder aber die Rötung auch nach Arzneistoffabtransport noch längere Zeit erhalten bleibt.

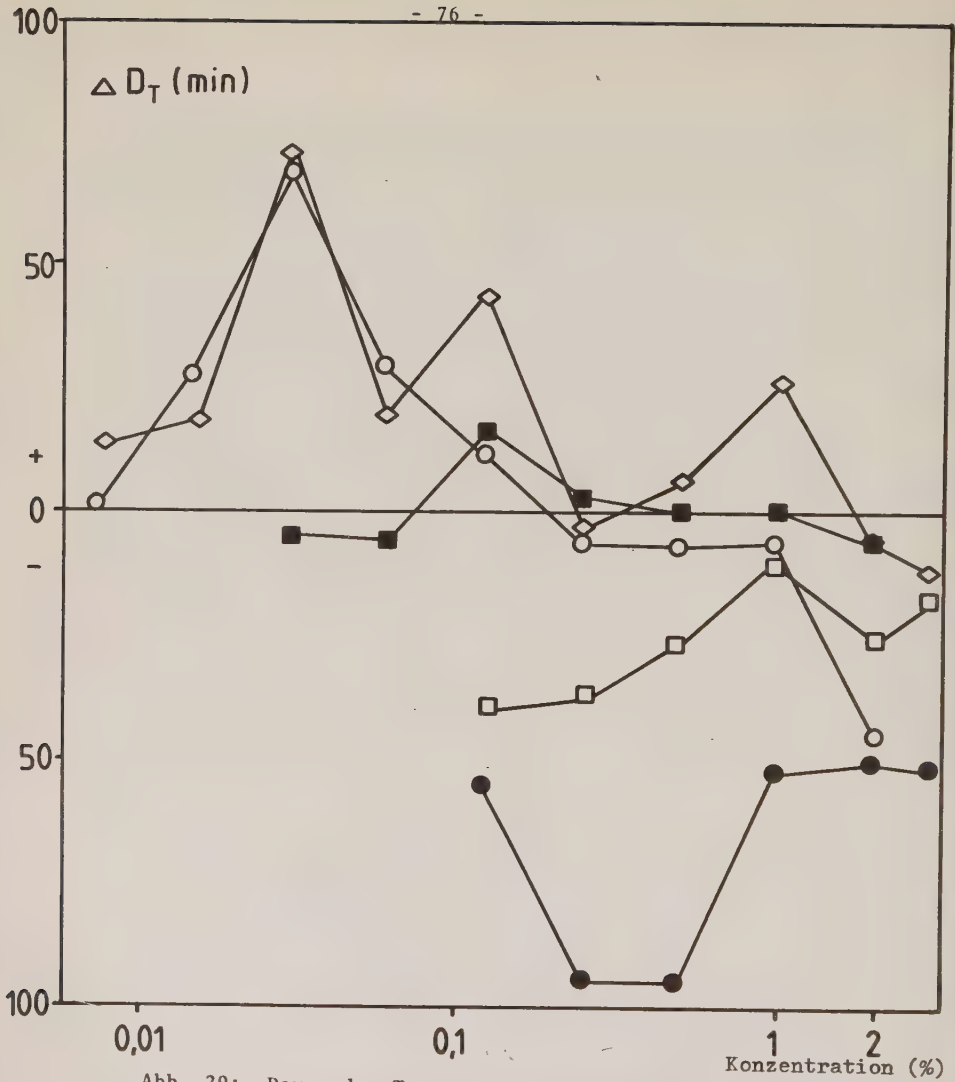


Abb. 29: Dauer der Temperaturerhöhung als Differenz Δ D_T zu den entsprechenden Vaselinewerten (Standard) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung)
Mittelwerte aus 3 Versuchen

Proband	Grundlage
L	Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe
A	Polyacrylatgel
R	Salhumin Gel
T	Polyethylenglykolsalbe
B	Mikroemulsion

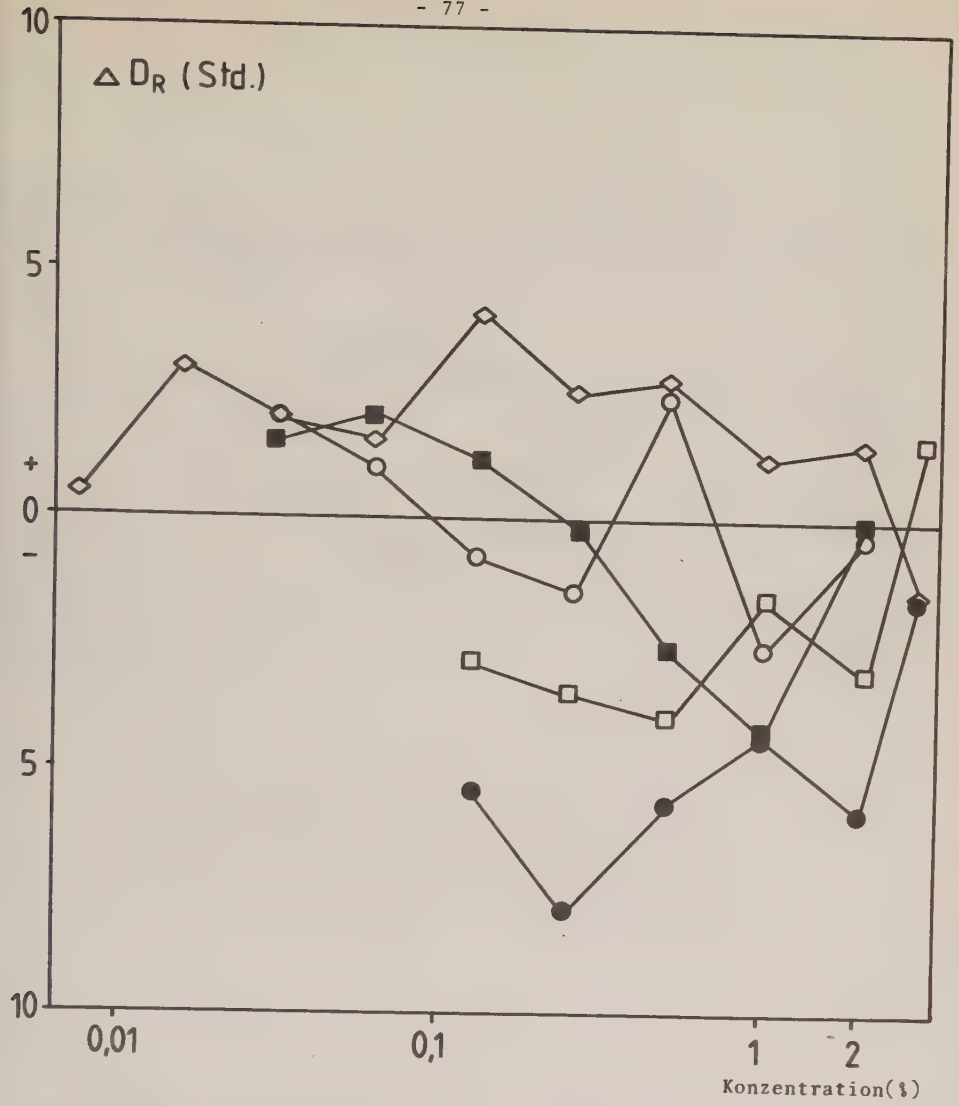


Abb. 30: Dauer der Rötung als Differenz Δ D_R zu den entsprechenden Vaselinewerten (Standard) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung)
Mittelwerte aus 3 Versuchen

Proband	Grundlage
L	Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe
A	Polyacrylatgel
R	Salhumin Gel
T	Polyethylenglykolsalbe
B	Mikroemulsion

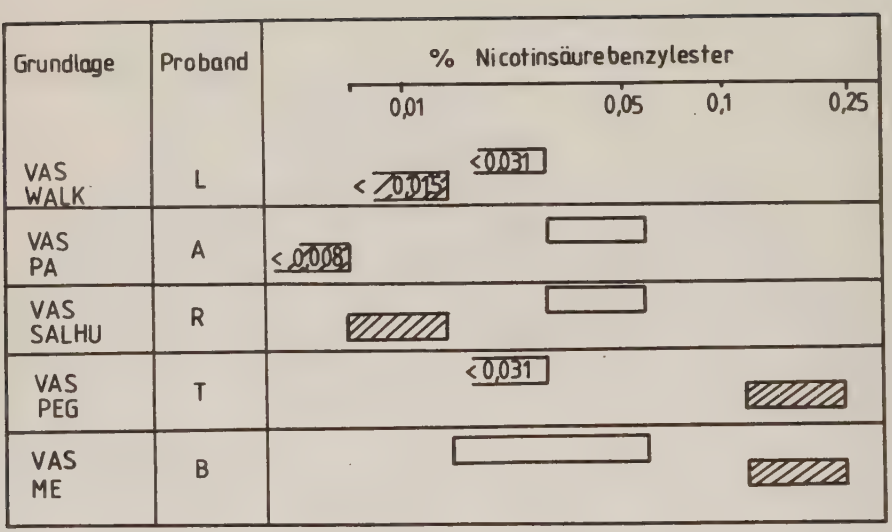


Abb. 31 : Bereiche der minimalen Wirkkonzentration für die Meßparameter Tmax, F/T, D_T, $1/t_{Tmax}$ von Vaseline (VAS) als Standard und den Testgrundlagen wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (WALK), Polyacrylatgel (PA), Salhumin Gel (SALHU), Polyethylenglykolsalbe (PEG) und Mikroemulsion (ME)

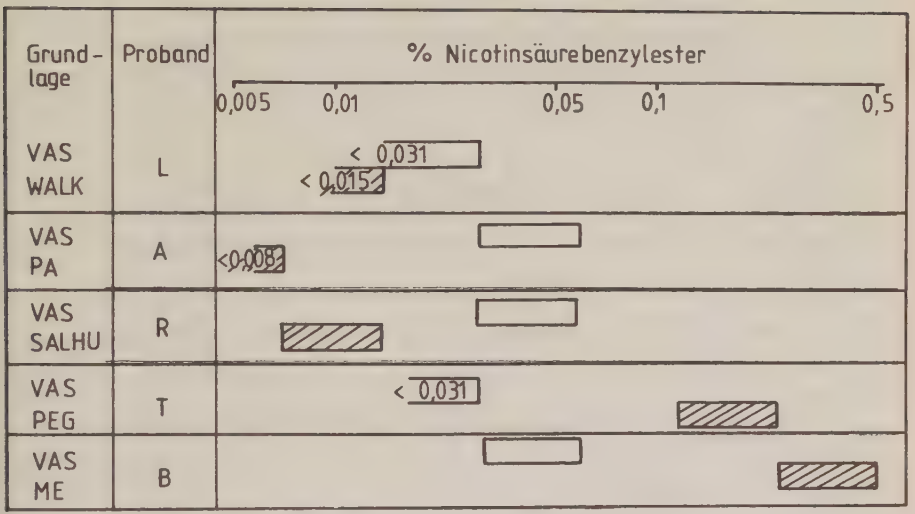


Abb. 32: Bereiche der minimalen Wirkkonzentration für die Meßparameter D_R und $1/t_R$ von Vaseline (VAS) als Standard und den Testgrundlagen wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (WALK), Polyacrylatgel (PA), Salhumin Gel (SALHU), Polyethylenglykolsalbe (PEG) und Mikroemulsion (ME)

Tab. 10: Aufnahmegeschwindigkeitskonstanten kp ($Std.^{-1}$) berechnet nach Gl. 14 aus den Steigungen der entsprechenden Dosis-Wirkung-Kurven (Dauer der Rötung) für die jeweiligen Testzubereitungen und Vaseline als Standard

Grundlage	Proband	Steigung der Dosis-Wirkungs-Kurve	kp ($Std.^{-1}$)
WALK	L	4,32	0,53
VAS		6,43	0,36
SALHU	R	4,51	0,51
VAS		5,10	0,43
PA	A	3,40	0,68
VAS		4,38	0,53
PEG	T	7,12	0,32
VAS		5,0	0,46
ME	B	8,8	0,26
VAS		4,1	0,56

Zeit bis zum Erreichen der maximalen Temperaturerhöhung (t_{Tmax})

In Abb. 13 sind die Zeiten bis zum Erreichen der maximalen Temperaturerhöhung für Vaseline bei allen Probanden in Abhängigkeit vom Logarithmus der Konzentration aufgetragen. Für wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, Polyacrylatgel und Salhumin Gel ergeben sich ähnliche Kurvenverläufe wie für die Vaseline des jeweiligen Probanden. Im Falle der Polyethylenglykolsalbe und der Mikroemulsion werden erstaunlicherweise bis zur maximalen Temperaturerhöhung im allgemeinen kürzere Zeiten gemessen (II.3.2). Wie bei den Meßparametern Tmax, F/T und D_T werden Temperaturerhöhungen und damit auch Zeiten bis zur maximalen Temperaturerhöhung zum Teil schon bei niedrigeren (Polyacrylatgel) und zum Teil erst bei höheren Konzentrationen erreicht (Polyethylenglykolsalbe und Mikroemulsion ,Abb. 31).

In Abb. 33 sind dazu die Differenzen aus den gemessenen Zeiten der Testzubereitungen und des jeweiligen Standards (Vaseline) in Abhängigkeit vom Logarithmus der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester aufgetragen. Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe läßt sich ebenso wie Polyacrylatgel und Salhumin Gel nicht eindeutig von der Vaseline unterscheiden.

Das Maximum der Temperaturerhöhung wird im unteren Konzentrationsbereich(< 0,125%) von Polyacrylatgel später und von wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe früher erreicht als von Vaseline. Bei höheren Esterkonzentrationen liegen die gemessenen Zeiten im Bereich der Vaseline. Nach Applikation der Mikroemulsion und der

Polyethylenglykolsalbe wird die maximale Temperaturerhöhung insgesamt früher erreicht als bei Vaseline.

Dieser Befund deutet abweichend von den übrigen Probanden auf eine höhere Aufnahmegeschwindigkeit aus Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe hin. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß die Fläche unter den Temperaturzunahme-Zeit-Kurven deutlich kleiner als bei den übrigen Grundlagen sind (Abb. 28) und die Erfassung von t_{Tmax} besonders bei geringen, absoluten Temperaturerhöhungen problematisch ist, da hier zum Teil mehrere Maxima auftreten.

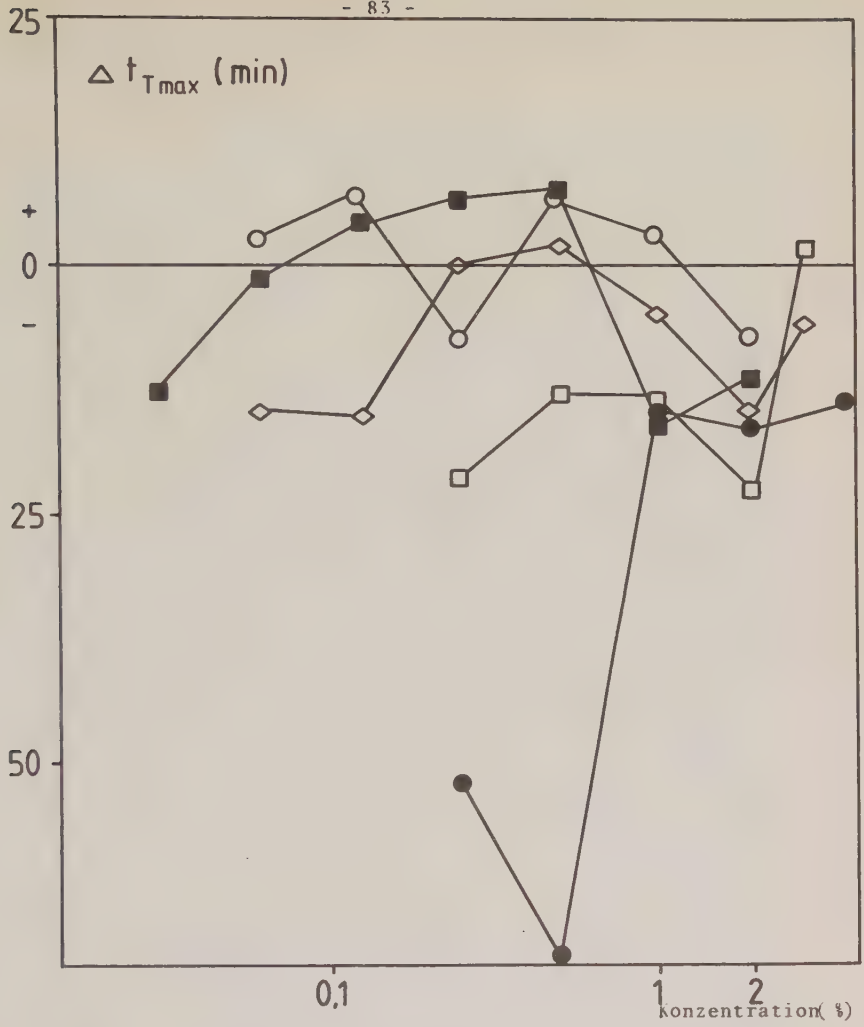


Abb. 33: Zeit bis zum Erreichen der maximalen Temperaturerhöhung als Differenz Δ t_{Tmax} zu den entsprechenden Vaselinewerten (Standard) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung) Mittelwerte aus 3 Versuchen

Proband	Grundlage
L	Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe
A	Polyacrylatgel
R	Salhumin Gel
T	Polyethylenglykolsalbe
B	Mikroemulsion

Reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$)

In Abb. 14 sind die reziproken Werte der Latenzzeit mit Vaseline bei allen 5 Probanden in Abhängigkeit vom Logarithmus der Konzentration aufgetragen. Der steile Bereich der Dosis-Wirkungs-Kurve liegt in Übereinstimmung mit den Meßparametern F/T, D_T, D_R zwischen 0,031 und 2%; die Kurven der entsprechenden Testgrundlagen sind demgegenüber verschoben. In Abb. 34 sind die reziproken Werte der Latenzzeit als Differenz zu den entsprechenden Vaselinewerten gegen die Logarithmen der Konzentration aufgezeichnet. Bis zu einer Konzentration von etwa 0,25% zeigen die wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, Polyacrylatgel und Salhumin Gel einen schnelleren Wirkungseintritt als Vaseline. Bei höheren Konzentrationen unterscheiden sich wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und Polyacrylatgel kaum mehr von der Vaseline. Im Falle des Salhumin Gels ist sogar eine Verzögerung des Wirkungseintritts zu erkennen. Für die Mikroemulsion ergibt sich gegenüber Vaseline ein langsamerer Wirkungseintritt (mit Ausnahme der Konzentration von 2%). Die Polyethylenglykolsalbe liegt im gesamten untersuchten Konzentrationsbereich deutlich unterhalb der Vaseline. Die minimalen Wirkkonzentrationen entsprechen denen der Dauer der Rötung (Abb.32).

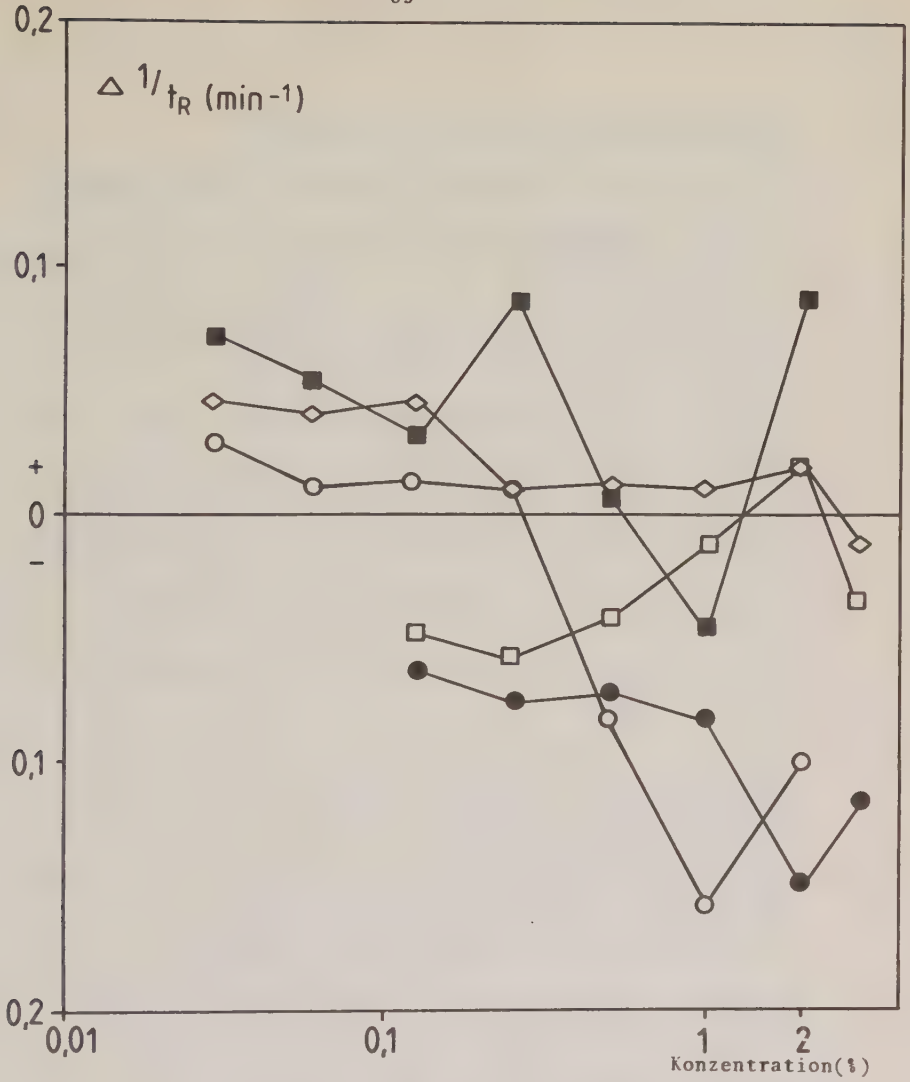


Abb. 34: Reziproker Wert der Latenzzeit als Differenz $\Delta\ 1/t_R$ zu den entsprechenden Vaselinewerten (Standard) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung)
Mittelwerte aus 3 Versuchen

Proband	Grundlage
L	Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe
A	Polyacrylatgel
R	Salhumin Gel
T	Polyethylenglykolsalbe
B	Mikroemulsion

Zusammenfassung der Befunde an 5 Probanden

Über die gemessenen Wirkungen lassen sich die Zubereitungen für jeden Meßparameter in einer Rangfolge ordnen (Tab. 11). Dazu werden die Wirkungsdifferenzen zwischen Testzubereitungen und Standard (Vaseline) für 4 bzw. 5 Konzentrationen im Bereich von 0,125% bzw. 2% aufaddiert und eingeordnet.

Bei den untersuchten Salben ergeben sich Unterschiede in der Wirksamkeit bzw. Bioverfügbarkeit, wobei sich folgendes abzeichnet: Die Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe zeigen generell eine geringere Wirksamkeit als der Standard Vaseline (Ausnahme t_{Tmax} bzw. $1/t_{Tmax}$). Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe ist insgesamt geringfügig effektiver als Vaseline, dies zeigt sich bei allen Meßparametern mit Ausnahme der Dauer und der Flächenausbreitung der Rötung. Die Hydrogele verhalten sich nicht einheitlich: Polyacrylatgel erweist sich in der Gesamtrangfolge als optimal wirksam. Salhumin Gel ist im allgemeinen schwächer wirksam als der Standard. Die Unterschiede der Hydrogele zeigen sich besonders bei der Flächenausbreitung des Erythems (F_R). Die qualitative Einordnung der untersuchten Salben ergibt für alle Meßparameter ähnliche Anordnungen (Ausnahme: t_{Tmax} bzw. $1/t_{Tmax}$). Der Parameter t_{Tmax} bzw. $1/t_{Tmax}$ wird auf Grund des abweichenden Verhaltens nicht in die Gesamtbeurteilung einbezogen.

Unter Berücksichtigung aller übrigen Meßparameter werden die Grundlagen nach ihrer Wirksamkeit bezogen auf Vaseline als

Standard in einer Gesamtrangfolge geordnet (Tab. 11): Die stärkste Wirksamkeit zeigt Polyarcylatgel, schwächer wirksam sind wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, Vaseline, Salhumin Gel, die Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe.

Die aus der mittleren Wirkungsdifferenz von Test- und Standardzubereitung (0,125 bis 2% Nicotinsäurebenzylester) berechneten relativen Bioverfügbarkeitsfaktoren (siehe II.1.2.2) ergeben die gleiche Gesamtrangfolge. Quantitativ ergeben sich für eine Salbe zum Teil unterschiedliche Bioverfügbarkeitsfaktoren (z.B. für Polyacrylatgel f_I = 4,5 und f_{ID} = 1,6; Tab. 12). Die Mittelwerte aller relativen Bioverfügbarkeitsfaktoren liegen zwischen 3 für das stark wirksame Polyacrylatgel und 0,1 für die schwach wirksame Polyethylenglykolsalbe.

Diese Rangfolge wird im allgemeinen sowohl mit den Rötungsparametern wie auch mit den Temperaturparametern erreicht. Außerdem ist erkennbar, daß die so ermittelte Rangfolge im großen und ganzen sowohl für intensitätsbezogene als auch dauerbezogene und intensitäts/dauerbezogene Parameter gilt. Demzufolge sind auch Parameter wie $1/t_R$ und D_R, die mit geringem, experimentellen Aufwand meßbar sind, zur Beurteilung von Wirksamkeits- bzw. Bioverfügbarkeitsunterschieden geeignet.

Auf Grund der großen biologischen Variabilität lassen sich die gewonnenen Erkenntnisse zunächst allerdings noch nicht verallgemeinern. Es werden daher weitere Messungen an einer

größeren Anzahl von Probanden durchgeführt, um die bisherigen Ergebnisse statistisch abzusichern.

Tab. 11 : Rangfolge der Wirksamkeit nicotinsäurebenzylesterhaltiger Salben bezogen auf Vaseline als Standard

Wertbemessung mit 5 Konzentrationen (0,125% - 2,0%)
5 Versuchspersonen

Meßparameter	Position:					
	1	2	3	4	5	6
$1/t_R$	WALK	PA	VAS	ME	SALHU	PEG
D_R	PA	VAS	SALHU	WALK	ME	PEG
F_R	PA	VAS	ME	WALK	SALHU	PEG
Tmax	PA	WALK	SALHU	VAS	ME	PEG
$1/t_{Tmax}$	PEG	ME	PA	WALK	VAS	SALHU
D_T	PA	WALK	VAS	SALHU	ME	PEG
F/T	PA	WALK	VAS	SALHU	ME	PEG

Gesamtrangfolge:

(ohne Berücksichtigung von $1/t_{Tmax}$)

PA > WALK > VAS > SALHU > ME > PEG

Positionsnummer:

7	15	17	24	27	36

Tab. 12 : Relative intensitäts- bzw. dauerbezogene sowie intensitäts- und dauerbezogene Bioverfügbarkeitsfaktoren (f_I, f_D, f_{ID}) berechnet über die Wirkungsdifferenz bzw. über das Verhältnis der ED_{50}-Werte (siehe II.1)

		PA	WALK	SALHU	ME	PEG
f_I	Tmax	4,5	+	1,8	0,2	0,04
	F_R	+	0,64	0,17	+	++
f_{ID}	F/T	1,61	1,06	0,66	0,26	0,02
f_D	D_T	2,16	1,19	0,63	0,2	0,03
	D_R	4,19	0,59	0,78	+	0,11
	$1/t_R$	2,15	1,78	0,14	0,42	0,07

\+ Dosis-Wirkungs-Kurven von Test- und Standardzubereitung nicht parallel.

++ Keine Flächenausbreitung bei der Testzubereitung im untersuchten Konzentrationsbereich.

4.2 Meßparameter reziproker Wert der Latenzzeit und Dauer der Rötung, 5-20 Versuchspersonen

5 - 20 Probanden testen Polysynlansalbe, Polyacrylatgel, Polyethylenglykolsalbe, Mikroemulsion und jeweils Vaseline als Standard. Als Wirksamkeitsparameter werden der reziproke Wert der Latenzzeit ($1/t_R$) und im Falle der Mikroemulsion auch die Dauer der Rötung (D_R) herangezogen, da sie sich im Gegensatz zu den übrigen Meßparametern besonders einfach messen lassen. Für diese Konzentrationsreihen werden 5 - 10 verschiedene Konzentrationen Nicotinsäurebenzylester in Vaseline und den entsprechenden Testgrundlagen eingesetzt.

Polysynlansalbe

In Abb. 35 sind die reziproken Werte der Latenzzeit von Nicotinsäurebenzylester in Vaseline und Polysynlansalbe in Abhängigkeit vom Logarithmus der Konzentration aufgetragen. Polysynlan und Vaseline ergeben zwischen 0,015 und 3% nahezu die gleiche Konzentrations-Wirkungs-Kurve, wobei sich die Bereiche der Standardabweichungen überlagern. Der in einem weiten Konzentrationsbereich lineare Verlauf (r^2 Vaseline = 0,961, r^2 Polysynlan = 0,915) [+)] resultiert aus der Bildung von Mittelwerten aus einer großen Anzahl von Probanden mit unterschiedlicher Reaktionsbereitschaft. Ein Vergleich der Steigungen über den gepaarten t-Test läßt für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von P = 0,1 keinen Unterschied erkennen. Dies gilt ebenso für die Achsenab-

---

+) lineare Regression

schnitte der Regressionsgeraden (Tab. 14). Im untersuchten Konzentrationsbereich zeichnet sich kein Einschwenken in ein Plateau ab. Der Bereich der minimalen Wirkkonzentration läßt sich für beide Grundlagen an Hand der vorliegenden Meßwerte nur abschätzen (ca. 0,006%).

Polyacrylatgel

Abb. 36 zeigt die Auftragung der reziproken Werte der Latenzzeit von Nicotinsäurebenzylester in Vaseline und Polyacrylatgel gegen die Logarithmen der eingesetzten Konzentrationen. Im Bereich von 0,008 bis 3% lassen beide Kurven wie im Falle von Polysynlansalbe einen nahezu linearen Verlauf erkennen (r^2 Vaseline = 0,910, r^2 Polyacrylatgel = 0,978). Der Vergleich der Steigungen im gepaarten t-Test ergibt keinen Unterschied (P = 0,1). Die Wirksamkeit von Polyacrylatgel scheint allerdings in weiten Konzentrationsbereichen geringfügig besser als die der Vaseline zu sein. So liegt der Achsenabschnitt der Regressionsgeraden für Vaseline bei 0,16 (min^{-1}), für Polyacrylatgel dagegen bei 0,18 (min^{-1}). Eine statistische Überprüfung dieser Werte für die einzelnen Probanden ergibt allerdings keinen signifikanten Unterschied (P = 0,1; Tab. 14). Der Bereich der minimalen Wirkkonzentration kann mit den eingesetzten Konzentrationen ebenfalls nur abgeschätzt werden (< 0,006%).

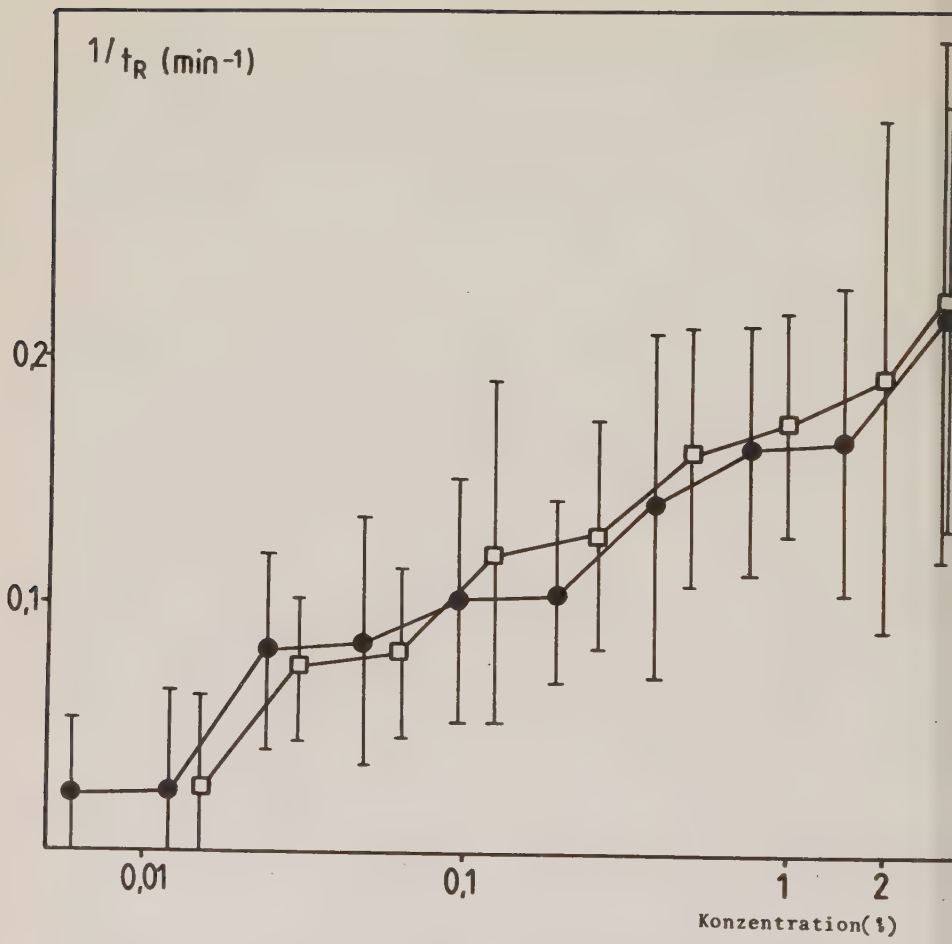


Abb. 35 : Reziproke Werte der Latenzzeit ($1/t_R$) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung
Mittelwerte von 20 Versuchspersonen mit Standardabweichung

—●— Vaseline

—□— Polysynlansalbe

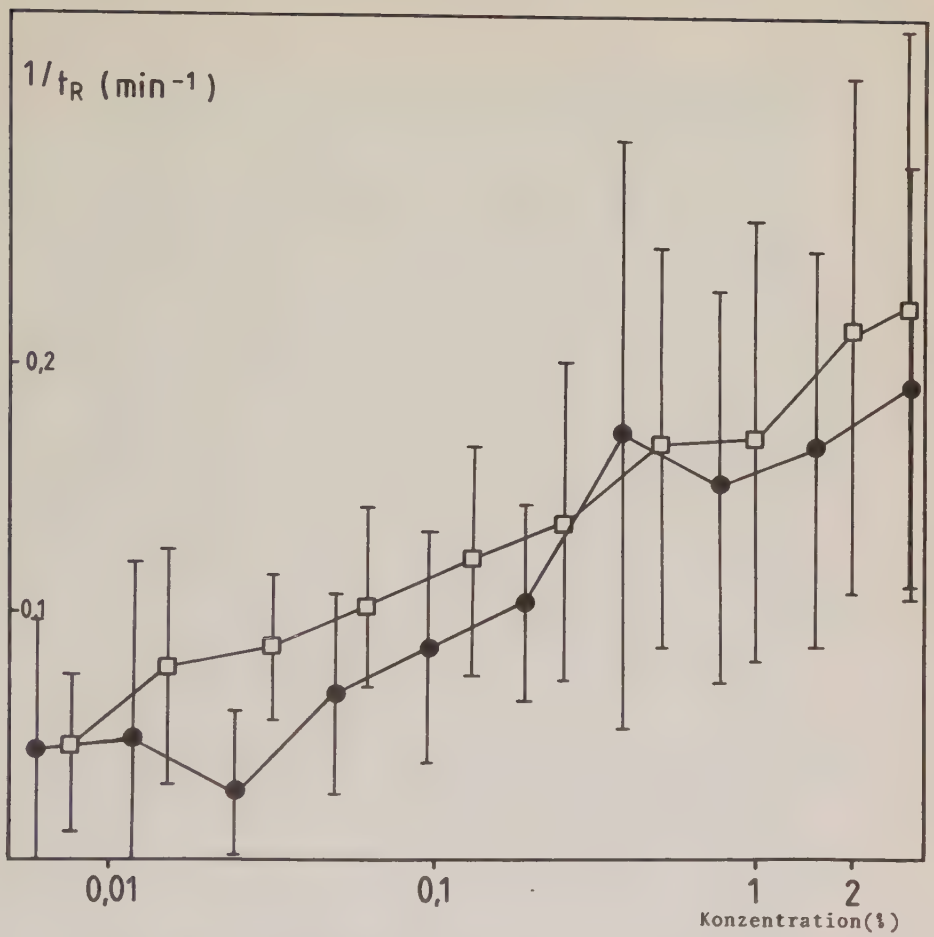


Abb. 36: Reziproke Werte der Latenzzeit ($1/t_R$) in Abhängigkeit von der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester (logarithmische Auftragung)
Mittelwerte von 13 Versuchspersonen mit Standardabweichung

—●— Vaseline

—□— Polyacrylatgel

Polyethylenglykolsalbe

Die reziproken Werte der Latenzzeit ($1/t_R$) der Polyethylenglykolsalbe sind in Abb. 37 zusammen mit Vaseline als Standard gegen die Logarithmen der Konzentration aufgetragen (5 Probanden). Es ergeben sich deutliche Wirkungsunterschiede. Die Kurven verlaufen in den mittleren Konzentrationsbereichen wiederum linear, insgesamt lassen sie jedoch einen sigmoiden Charakter erkennen. Für den linearen, parallelen [+)] Bereich der Vaseline (von 0,01 bis 1%, r^2 = 0,987) und Polyethylenglykolsalbe (von 0,125 bis 2%, r^2 = 0,990) ergeben sich Achsenabschnitte von 0,18 und 0,09 (min^{-1}), die den Wirksamkeitsunterschied der beiden Zubereitungen verdeutlichen. Dieser Unterschied ist signifikant für P= 0,01. Die minimale Wirkkonzentration der Vaseline liegt zwischen 0,006 und 0,012% Nicotinsäurebenzylester, bei der Polyethylenglykolsalbe dagegen zwischen 0,063 und 0,25%, also mindestens um das zehnfache höher. Dieser Befund entspricht recht gut den Einzeluntersuchungen aus II.4.1 (Abb. 32).

Mikroemulsion

Im Falle der Mikroemulsion sind sowohl der reziproke Wert der Latenzzeit ($1/t_R$) als auch die Dauer der Rötung (D_R) gemessen und in Abb. 38 und 39 im Vergleich zur Vaseline gegen den Logarithmus der Konzentration aufgetragen.

[+)] Der Steigungsvergleich (t-Test für gepaarte Stichproben) ergibt keinen Hinweis auf Unterschiede (Tab. 14).

Für die reziproken Werte der Latenzzeit ergeben sich Geraden (r^2 Vaseline = 0,984; r^2 Mikroemulsion = 0,978), wobei die Wirksamkeit der Mikroemulsion zumindest anfangs signifikant unter der der Vaseline liegt. Bei höheren Konzentrationen treten allerdings ähnliche Wirkungen auf. Dies bedingt die signifikant unterschiedliche Steigung der Geraden (P = 0,01). Ein Vergleich der Wirkung bei einer Konzentration ergibt damit keine für den gesamten Konzentrationsbereich gültige Aussage (siehe II.1.1). Es werden daher Einzelwerte verglichen, um die Unterschiede statistisch zu überprüfen (Konzentrationen: 0,25%, 1%, 2%, Tab. 13). Es zeigt sich, daß lediglich für 0,25% Nicotinsäurebenzylester ein signifikanter Wirkungsunterschied vorliegt. Da alle gemessenen Konzentrationen im steilen Bereich der Konzentrations-Wirkungs-Kurve liegen und noch deutlich wirksam sind, läßt sich über die minimale Wirkkonzentration keine Aussage machen.

Die Rötungsdauer ist bei der Mikroemulsion im gesamten untersuchten Konzentrationsbereich kürzer als bei der Vaseline. Die entsprechenden Dosis-Wirkungs-Kurven verlaufen bei beiden Zubereitungen linear (r^2 Vaseline = 0,984; r^2 Mikroemulsion = 0,989). Ein signifikanter Unterschied in der Steigung der beiden Geraden kann allerdings nicht festgestellt werden (P = 0,1; Tab. 14). Die Unterschiede in der Wirksamkeit kommen in den verschieden großen Achsenabschnitten zum Ausdruck: Vaseline = 4,0 und Mikroemulsion 2,8 Stunden (signifikant unterschiedlich für P = 0,001). Die minimalen Wirkkonzentrationen können wie bei den $1/t_R$-Werten mit den vorliegenden Konzentrationen nicht bestimmt werden.

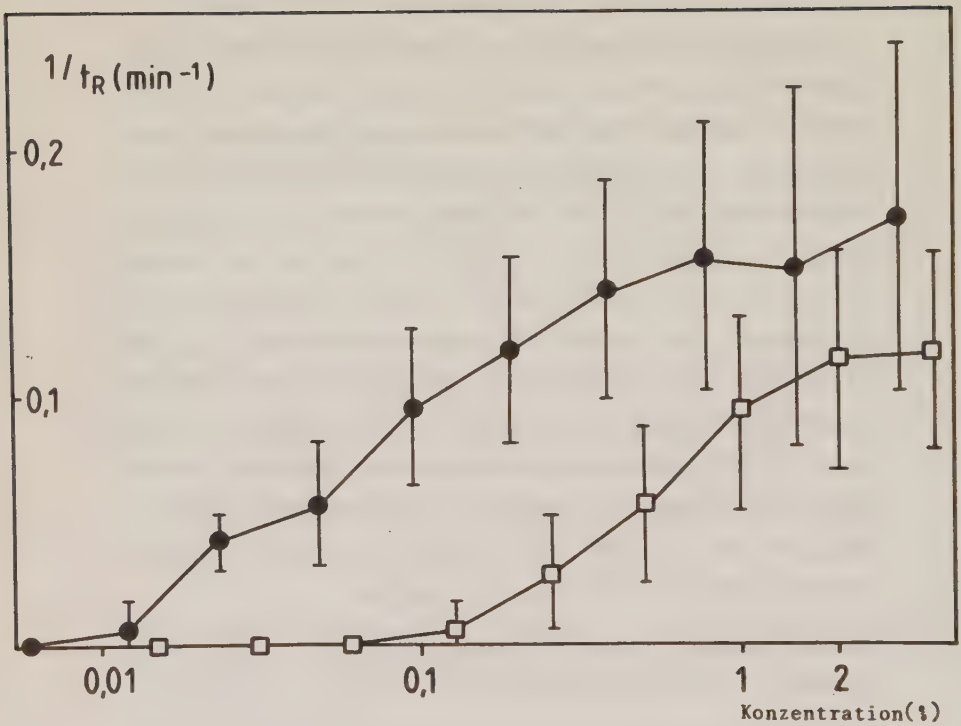


Abb. 37 : Reziproke Werte der Latenzzeit ($1/t_R$) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung)

Mittelwerte von 5 Versuchspersonen mit Standardabweichung

—●— Vaseline

—□— Polyethylenglykolsalbe

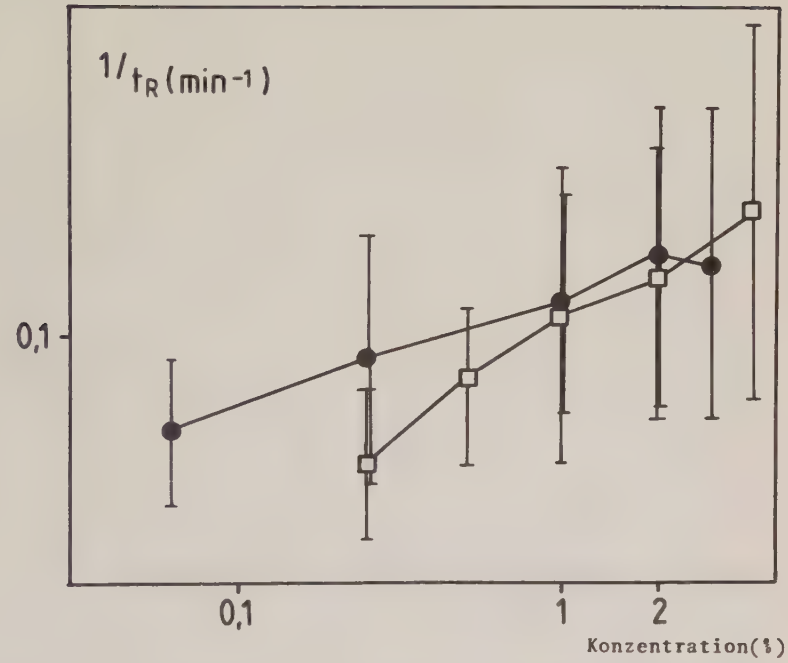


Abb. 38 : Reziproke Werte der Latenzzeit ($1/t_R$) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung)

Mittelwerte von 16 Versuchspersonen mit Standardabweichung

—●— Vaseline

—□— Mikroemulsion

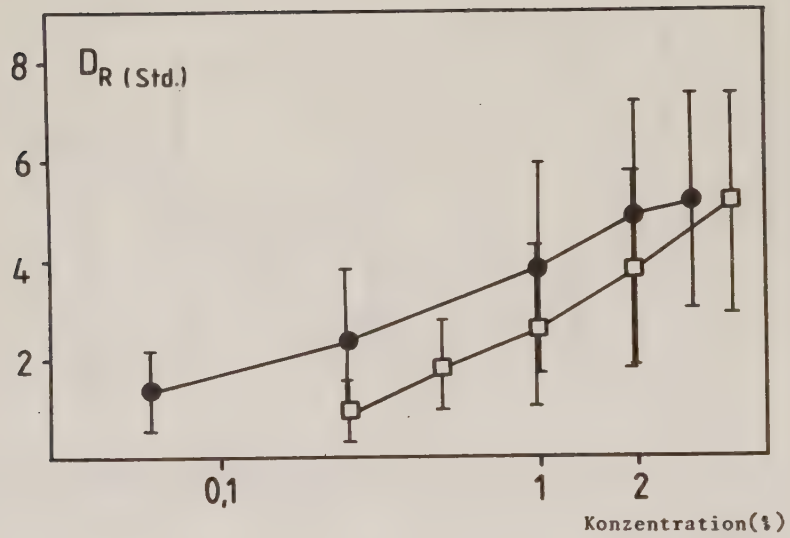


Abb. 39 : Dauer der Rötung (D_R) in Abhängigkeit von der Konzentration (logarithmische Auftragung)
Mittelwerte von 16 Versuchspersonen mit Standardabweichung

—●— Vaseline

—□— Mikroemulsion

Tab. 13 : Gepaarter t-Test für Mikroemulsion und Vaseline bei verschiedenen Konzentrationen

Meßparameter $1/t_R$ und D_R, 16 Versuchspersonen, experimentelle Werte aus Abb. 38 bzw. 39

+ : signifikant unterschiedlich für P = 0,1

Nicotinsäurebenzylester-konzentration in %	0,25	1	2
Meßparameter		t - W e r t e	
$1/t_R$	4,81 +	0,404	0,918
D_R	4,584 +	2,993 +	2,694 +

Zusammenfassung der Befunde mit 5 - 20 Probanden

Die Untersuchungen an einer größeren Probandenzahl bestätigen im allgemeinen die Befunde mit jeweils einem Probanden. Sie lassen darüber hinaus detaillierte, statistisch fundierte Aussagen zu. Wie schon bei den Konzentrations-Wirkungsbeziehungen mit einem Probanden ergibt sich auch hier für Polyethylenglykolsalbe und Mikroemulsion im Vergleich zu den übrigen untersuchten Grundlagen eine deutliche Wirkungsverminderung. Im Falle der Polyethylenglykolsalbe zeigt der Vergleich der reziproken Werte der Latenzzeit mit denen des Standards Vaseline einen signifikanten Unterschied. Damit resultieren auch entsprechende relative Bioverfügbarkeitsfaktoren: Aus der Diffe-

renz der Achsenabschnitte der Regressionsgeraden der einzelnen Probanden wird für die Polyethylenglykolsalbe ein mittlerer dauerbezogener Bioverfügbarkeitsfaktor von nur 0,16 im Vergleich zur Vaseline errechnet (Tab. 14).

Für die Mikroemulsion lassen sich bei den reziproken Werten der Latenzzeit signifikante Unterschiede nur für die Konzentration 0,25% feststellen, da die Regressionsgeraden von Test und Standard nicht parallel sind. Im Falle der Dauer der Rötung besteht jedoch ein signifikanter Wirkungsunterschied über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich (Mittelwert der relativen Arzneistoffaufnahmegeschwindigkeit 0,6; Tab. 14). Zwischen Polysynlansalbe und Polyacrylatgel einerseits und Vaseline andererseits läßt sich über die reziproken Latenzzeiten kein signifikanter Unterschied feststellen. In Übereinstimmung mit den Untersuchungen an einem Probanden (siehe II.4.1) deutet sich für Polyacrylatgel zwar im Vergleich zum Standard ein höherer relativer dauerbezogener Bioverfügbarkeitsfaktor an: Die errechneten Werte liegen im Mittel bei 11,2, also sehr hoch, zeigen aber eine besonders starke Streuung (s = 20,5), so daß letztendlich Polyacrylat nicht als günstiger angesehen werden kann.

5. Einzelmessungen (Blocktests)

5.1 2-Punkt-Test

Tests mit allen Rötungs- und Temperaturparametern lassen sich für ganze Konzentrationsreihen wegen des hohen Versuchsaufwan-

Tab. 14: Bestimmtheitsmaße (r^2), Steigung (a) und Achsenabschnitte (b) der Regressionsgeraden [+] (Abb. 35-39) sowie relative dauerbezogene Bioverfügbarkeitsfaktoren f_D bezogen auf Vaseline (= Standard) für Polysynlansalbe (PS), Polyacrylatgel (PA), Polyethylenglykolsalbe (PEG) und Mikroemulsion (ME)
Meßparameter: reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$) und Dauer der Rötung (D_R)
* : signifikant unterschiedlich für P ≦ 0,1

Meßparameter $1/t_R$							
Grundlage	Anzahl d. Versuchspersonen	r^2	Steigung a [+]	Steigungsvergleich t-Wert [++]	Achsenabschn. b	Vergl.d. Achsenabschnitte t-Wert [++]	f_D (± s)
VAS	20	0,961	0,068		0,169		
				-0,328		-0,603	1,4
PS	20	0,915	0,070		0,176		
							(± 1,5)
VAS	13	0,910	0,065		0,161		
				-0,090		-0,847	11,2
PA	13	0,978	0,065		0,184		
							(± 20,5)
VAS	5	0,987	0,085		0,175		
				-0,755		4,856 *	0,16
PEG	5	0,990	0,095		0,088		
							(± 0,17)
VAS	16	0,982	0,042		0,114	+++)	+++)
				-3,72 *			
ME	16	0,978	0,081		0,102		
Meßparameter D_R							
VAS	16	0,984	2,273		3,971		
				-1,12		4,391 *	0,59
ME	16	0,989	3,403		2,825		
							(± 0,58)

[+] Berechnet für die steilen Bereiche der Konzentrations-Wirkungs-Kurven

[++] Steigungsvergleich bzw. Vergleich der Achsenabschnitte über den t-Test für gepaarte Stichproben

[++] Der Vergleich entfällt wegen signifikant unterschiedlicher Steigung

des nur in beschränkter Anzahl durchführen. Es liegt daher nahe, die Konzentrationen, an denen gemessen werden soll, auf ein Minimum zu reduzieren. Auf Grund der vorausgegangenen Versuche läßt sich der steile, annähernd lineare Bereich der Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die einzelnen Meßparameter und Grundlagen eingrenzen. Dementsprechend werden zwei Nicotinsäurebenzylesterkonzentrationen aus diesem Bereich (0,063 und 1%) an 9 Versuchspersonen gemessen, um die Wirksamkeitsunterschiede bzw. Unterschiede in der Aufnahmegeschwindigkeit statistisch zu prüfen. Voraussetzung ist wiederum die Parallelität der Wirkungsgeraden (II.1; Tab. 15). Gleichzeitig soll ermittelt werden, ob die mit einem einfachen Wirksamkeitsparameter wie $1/t_R$ festgestellten Unterschiede sich auch mit den übrigen Meßparametern ergeben. Folgende Salben werden getestet: Vaseline, wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, Polyethylenglykolsalbe, Polyacrylatgel und Salhumin Gel.

Der Versuch ist als randomisierter Block angelegt (Zweifach-Cross-over), jede Versuchsperson (Block) testet jede der fünf Salben einmal in zwei Konzentrationen, die gemessenen Effekte der 9 Probanden werden gemittelt. Man ist also nicht mehr auf einen bestimmten Standard angewiesen, alle Salben können direkt miteinander verglichen werden. Damit ergeben sich für jeden Meßparameter 10 mögliche Vergleichskombinationen, die im einzelnen in den Tabellen 15 und 16 aufgeführt sind. Durch diesen Versuchsplan ist es möglich, Unterschiede zwischen den Probanden weitgehend zu eliminieren.

In Tab. 15 sind die Zubereitungen, bei denen man von gleicher Steigung der Dosis-Wirkungs-Kurven ausgehen kann, markiert. Für den Wirkungsvergleich dieser Salben werden die Mittelwerte aus den Meßwerten der beiden Konzentrationen gebildet und im t-Test für gepaarte Stichproben auf Signifikanz geprüft (P = 0,2 bzw. 0,1; Tab. 16). Für die übrigen Salben (Tab. 15) kann bei der vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit von P=0,2 eine unterschiedliche Steigung festgestellt werden. In diesen Fällen werden beide Nicotinsäurebenzylesterkonzentrationen einzeln verglichen (P = 0,2 bzw. 0,1; Tab. 17).

Im einzelnen ergibt der Wirksamkeitsvergleich mit allen Parametern folgendes Bild:

Vaseline/wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe

Für Vaseline (linke obere Seite in Tab. 15) ergibt sich im Vergleich mit der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe (darüber angeordnet) bei keinem der Meßparameter ein signifikanter Unterschied in der Steigung der Wirkungsgeraden, der Mittelwertvergleich ist also in allen Fällen erlaubt. In Übereinstimmung mit den vorausgegangenen Untersuchungen an einem Probanden, wo sich diese Tendenz abzeichnet, ergeben sich keine Wirksamkeitsunterschiede.

Vaseline/Polyethylenglykolsalbe

Beim Vergleich von Vaseline mit Polyethylenglykolsalbe kann der Mittelwertvergleich für die Parameter $1/t_{Tmax}$ und D_T durchgeführt werden. Dabei bewirkt Vaseline eine signifikant längere Temperaturerhöhung als die Polyethylenglykolsalbe.

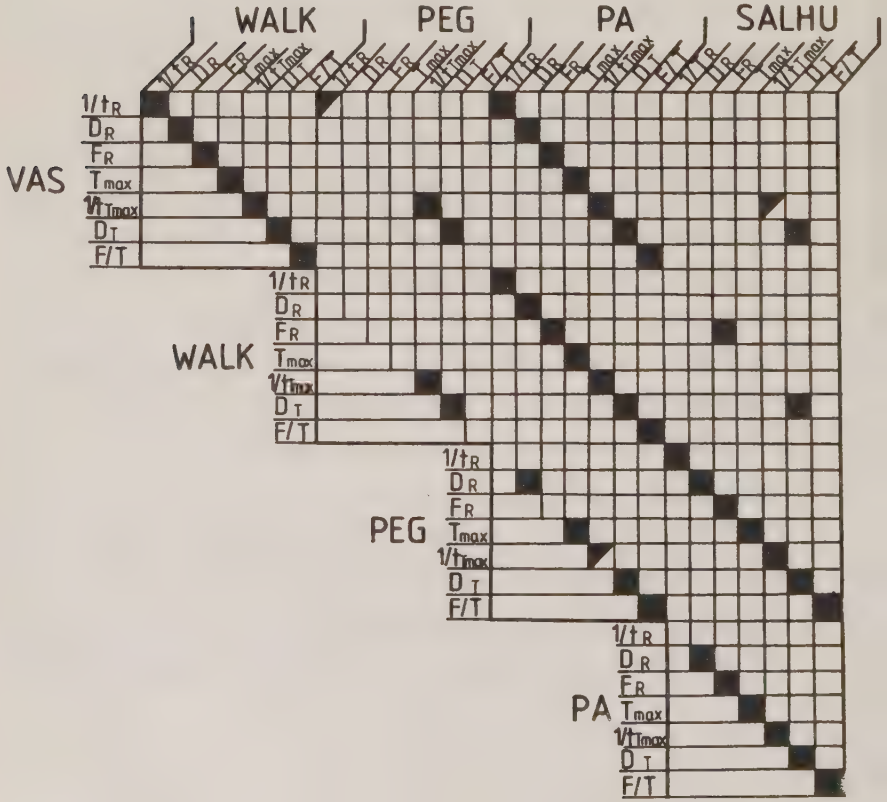
Tab. 15: Parallelitätstest der Geraden aus dem 2-Punkt-Test; 0,063 und 1% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (VAS), wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe (WALK), Polyethylenglykolsalbe (PEG) und Salhumin Gel (SALHU)

9 bzw. 10 Versuchspersonen, alle Rötungs- und Temperaturparameter

■ Parallelität der Wirkungsgeraden wird angenommen, kein signifikanter Unterschied in der Steigung für P = 0,2

◪ Nicht parallele Wirkungsgeraden, signifikanter Unterschied in der Steigung für P = 0,2

□ Nicht parallele Wirkungsgeraden, signifikanter Unterschied in der Steigung für P = 0,1



Tab. 16 : Mittelwertvergleiche von allen Wirksamkeitsparametern im 2-Punkt-Test; Vergleich der Mittelwerte der Wirkungen von 0,063 und 1% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (VAS), wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe (WALK), Polyethylenglykolsalbe (PEG), Polyacrylatgel (PA) und Salhumin Gel (SALHU)

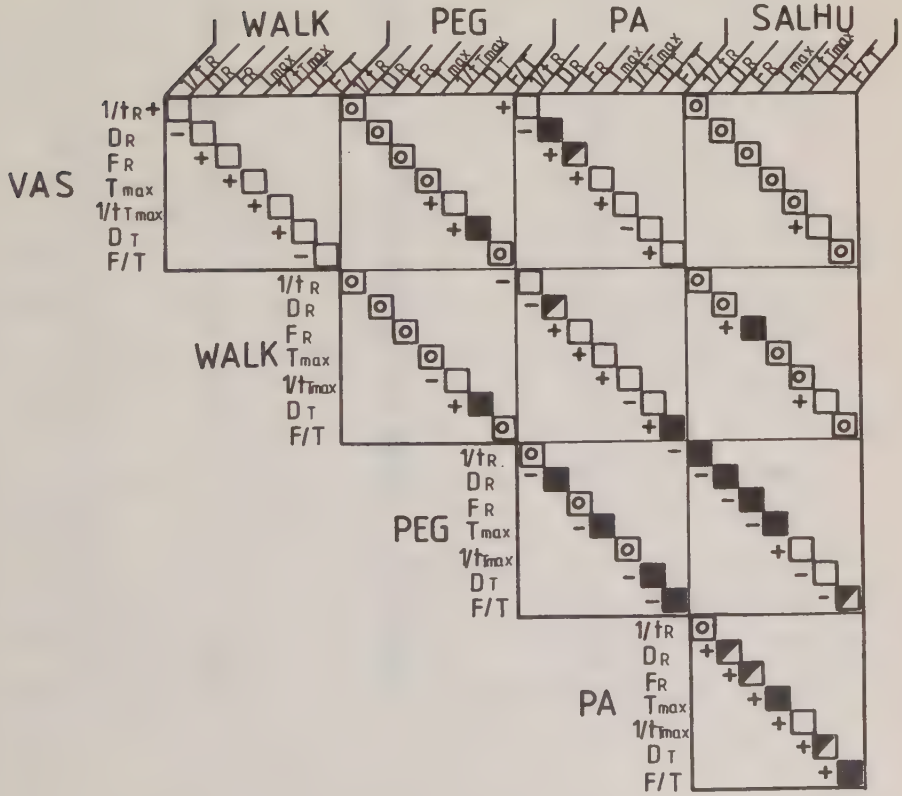
\+ : stärkere Wirkung; -: schwächere Wirkung bezogen auf die jeweils oben stehende Salbe

■ signifikanter Unterschied mit P = 0,1

◪ signifikanter Unterschied mit P = 0,2

□ kein signifikanter Unterschied mit P = 0,2

⊡ Wirkungsvergleich auf diese Weise nicht erlaubt, da signifikant unterschiedliche Steigungen vorliegen (P = 0,2)



Tab. 17: Wirkungsvergleich von Zubereitungen mit signifikant unterschiedlicher Steigung der Wirkungsgeraden von Test und Standard (siehe auch Tab. 15 , Parallelitätstest)

\+ : stärker wirksam; - : schwächer wirksam

■ signifikanter Unterschied mit P = 0,1

◪ signifikanter Unterschied mit P = 0,2

□ kein signifikanter Unterschied mit P = 0,2

Wirksamkeits-Parameter	Test	Nicotinsäurebenzylesterkonzentration 1 %	0,063 %	Bezug
$1/t_R$	VAS	+ ■	+ ■	PEG
	VAS	+ ◪	+ □	SALHU
	WALK	+ ■	+ ■	PEG
	WALK	+ ■	+ □	SALHU
	PEG	- ■	- ■	PA
	PA	+ ■	- □	SALHU
D_R	VAS	+ ■	+ ■	PEG
	VAS	+ □	- ■	SALHU
	WALK	+ ■	+ ■	PEG
	WALK	+ □	- ■	SALHU
F_R	VAS	+ ■	+ □	PEG
	VAS	+ ■	+ □	SALHU
	WALK	+ ■	+ □	PEG
	WALK	+ ■	- □	SALHU
	PEG	+ ■	+ ■	PA
T_{max}	VAS	+ ■	+ ■	PEG
	VAS	+ ■	+ □	SALHU
	WALK	+ ■	+ ■	PEG
	WALK	+ ■	+ □	SALHU
$1/t_{Tmax}$	VAS	+ □	- □	SALHU
	WALK	+ □	- ◪	SALHU
	PEG	- □	- □	PA
F/T	VAS	+ ■	+ ■	PEG
	VAS	+ ■	+ □	SALHU
	WALK	+ ■	+ ■	PEG
	WALK	+ ■	+ □	SALHU

Die reziproken Zeiten bis zum Erreichen der maximalen Temperaturerhöhung ergeben dagegen keinen Unterschied. Für die übrigen Meßparameter werden die einzelnen Konzentrationen verglichen, wobei sich Vaseline bei allen Vergleichen (mit Ausnahme des Parameters F_R 0,063%) als deutlich wirksamer erweist (Tab. 17).

Vaseline/Polyacrylatgel

Der Mittelwertvergleich ist für Vaseline und Polyacrylatgel bei allen Meßparametern erlaubt. Signifikante Unterschiede treten nur bei der Dauer der Rötung (Vaseline kürzer) und bei der Flächenzunahme des Erythems (im Fall der Vaseline ausgeprägter) auf.

Vaseline/Salhumin Gel

Im Falle des Salhumin Gels kann nur die Dauer der Temperaturerhöhung über die Mittelwerte aus den beiden Konzentrationen verglichen werden. Dabei ergibt sich kein signifikanter Wirkungsunterschied. Für die übrigen Meßparameter sind auf Grund der unterschiedlichen Steigung die Wirkungsunterschiede einzeln zu prüfen. Für die reziproken Werte der Zeit bis zum Erreichen der maximalen Temperatur ($1/t_{Tmax}$) ist für beide Konzentrationen ebenfalls kein Unterschied feststellbar (Tab. 17). Für die Parameter $1/t_R$, F_R, Tmax, F/T zeigen sich bei einer Konzentration von 1% Wirksamkeitsunterschiede: Vaseline ist in diesen Tests wirksamer als Salhumin Gel. Bei einer Konzentration von 0,063% Nicotinsäurebenzylester ist jedoch kein signifikanter Unterschied mehr erkennbar. Die Dauer der Rötung zeigt gegensätzliches Verhalten: Vaseline unterscheidet sich bei 1% nicht

von Salhumin Gel, während die Dauer der Rötung bei 0,063% deutlich kürzer ist.

Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe/Polyethylenglykolsalbe
Der Mittelwertvergleich aus beiden Konzentrationen ist nur für die reziproken Zeiten bis zur maximalen Temperaturerhöhung und die Dauer der Temperaturerhöhung erlaubt. Dabei hält die Temperaturerhöhung bei Anwendung der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe signifikant länger an als bei der Polyethylenglykolsalbe. Für $1/t_{Tmax}$ zeigt sich kein Unterschied. Beim Vergleich der einzelnen Konzentrationen ergibt sich deutlich verminderte Wirksamkeit für die Polyethylenglykolsalbe (Ausnahme: Parameter F_R bei 0,063).

Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe/Polyacrylatgel
Vergleicht man Polyacrylatgel mit der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe, so ist wie beim entsprechenden Vergleich mit Vaseline keine unterschiedliche Steigung nachweisbar. Auch hier ist die Dauer der Rötung der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe kürzer. Die Fläche unter der Temperaturzunahme-Zeit-Kurve der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe ist dagegen deutlich grösser als bei Polyacrylatgel. Mit den übrigen Meßparametern ergibt sich kein signifikanter Unterschied.

Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe/Salhumin Gel
Für den Vergleich des Salhumin Gels mit der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe kann man nur im Falle der Flächenausbreitung der Rötung und der Dauer der Temperaturerhöhung von Parallelität der Wirkungsgeraden ausgehen. Beim Mittelwertvergleich zeigt

die wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe eine deutlich stärkere Flächenausbreitung des Erythems, während für die Dauer der Rötung kein Wirksamkeitsunterschied festzustellen ist.

Bei den übrigen Meßparametern werden die eingesetzten Nicotinsäurebenzylester-Konzentrationen einzeln verglichen (Tab. 17). Dabei ergibt sich in etwa das gleiche Bild wie beim Vergleich der Vaseline mit Salhumin Gel: Die reziproken Zeiten bis zur maximalen Temperaturerhöhung unterscheiden sich praktisch nicht. Bei $1/t_R$, Tmax und F/T ist wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe bei einer Konzentration von 1% signifikant wirksamer, für 0,063% ist kein Unterschied feststellbar. Die Dauer der Rötung zeigt auch hier gegensätzliches Verhalten: Kein Wirksamkeitsunterschied bei 1% und eine signifikant kürzere Dauer der Rötung für die wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe bei einer Konzentration von 0,063%.

Polyethylenglykolsalbe/Polyacrylatgel

Die Mittelwertvergleiche über D_R, Tmax, D_T und F/T ergeben alle eine signifikant schwächere Wirksamkeit für Polyethylenglykolsalbe. Dies gilt auch für den Vergleich der einzelnen Konzentrationen für die Parameter $1/t_R$ und F_R (Ausnahme $1/t_{Tmax}$).

Polyethylenglykolsalbe/Salhumin Gel

Der Mittelwertvergleich ist bei allen Meßparametern erlaubt. Mit dem Meßparametern $1/t_R$, D_R, F_R und Tmax ergibt sich für Polyethylenglykolsalbe deutlich geringere Wirksamkeit, dies gilt in abgeschwächter Form auch für den Parameter F/T. Die mit den Parametern $1/t_{Tmax}$ und D_T gemessenen Wirksamkeiten ergeben keinen

Unterschied.

Polyacrylatgel/Salhumin Gel

Der Mittelwertvergleich der beiden Gele ergibt im Falle der maximalen Temperaturerhöhung und der Fläche unter der Temperaturzunahme-Zeit-Kurve einen deutlichen Wirkungsunterschied. Polyacrylatgel ist dabei stärker wirksam als Salhumin Gel. Dies gilt in geringerem Maß auch für die Dauer der Rötung, die Flächenausbreitung des Erythems und die Dauer der Temperaturerhöhung.

Für die reziproken Werte der Latenzzeit liegen keine parallelen Wirkungsgeraden vor. Polyacryaltgel zeigt nur bei 1% Nicotinsäurebenzylester einen signifikant schnelleren Wirkungseintritt.

Zusammenfassung der Befunde aus dem 2-Punkt-Test

Mit Hilfe des 2-Punkt-Tests lassen sich die Wirksamkeitsunterschiede der untersuchten Salben statistisch prüfen. Im großen und ganzen werden dabei die Ergebnisse aus den Konzentrations-Wirkungs-Kurven (II.4.1 und II.4.2) bestätigt: Für Polyethylenglykolsalbe ergibt sich im Vergleich mit den übrigen Grundlagen bei allen Meßparametern (Ausnahme $1/t_{Tmax}$ [+)]) eine deutlich schwächere Wirksamkeit. Werden die Salben nach ihrer

---

+) Für diesen Meßparameter ist beim Vergleich der einzelnen Salben in keinem Fall ein deutlicher Wirksamkeitsunterschied feststellbar. Offensichtlich besitzt dieser Parameter eine geringere Trennschärfe (siehe II.3.4).

Effektivität geordnet (Tab. 18), so nimmt Polyethylenglykolsalbe in dieser Rangfolge den letzten Platz ein (Tab. 18, letzte Spalte). Salhumin Gel ist wirksamer als Polyethylenglykolsalbe, erreicht jedoch nicht die Wirksamkeit des Polyacrylatgels und mit Ausnahme der Dauer der Rötung auch nicht die der Vaseline und der wasserhaltigen Wollwachsalkoholsalbe. Polyacrylatgel, wasserhaltige Wollwachsalhokolsalbe und Vaseline unterschieden sich bei nahezu allen Meßparametern kaum voneinander, bestenfalls ist Polyacrylatgel geringfügig effektiver. Bei den Parametern D_R und F_R ergeben sich von dieser generellen Rangfolge Abweichungen.

Bei einem Vergleich der Wirksamkeiten, gemessen mit verschiedenen Meßparametern, werden sowohl bei der einfach bestimmbaren reziproken Latenzzeit als auch bei den Temperaturparametern Tmax, D_T und F/T, die nur mit erheblichem Versuchsaufwand meßbar sind, im wesentlichen die gleichen Aussagen erhalten.

Tab. 18: Rangfolge der Wirksamkeit nicotinsäurebenzylesterhaltiger Salben im 2-Punkt-Test
9 bzw. 10 Versuchspersonen

Meßparameter	Rangfolge
$1/t_R$	VAS = WALK = PA > SALHU >> PEG
D_R	PA >> SALHU > VAS = WALK >> PEG
F_R	VAS = WALK > PA > SALHU >> PEG
T_{max}	VAS = WALK = PA >> SALHU >> PEG
$1/t_{Tmax}$	VAS = WALK = PA = SALHU = PEG
D_T	VAS = WALK = PA > SALHU >> PEG
F/T	VAS = WALK = PA >> SALHU >> PEG

Gesamtrangfolge:

PA > WALK = VAS > SALHU > PEG

Positionsnummer:

15	16	16	25	33

5.2 1-Punkt-Test

Ein einfacher Wirksamkeitsvergleich läßt sich auch mit nur einer Arzneistoffkonzentration durchführen, vorausgesetzt Parallelität der Dosis-Wirkungs-Kurve ist nachgewiesen und die Messungen liegen im steilen Bereich. Anderenfalls beschränken sich Aussagen nur auf die angewandten Konzentrationen und lassen sich nicht ohne weiteres auf andere Konzentrationsbereiche übertragen (II.1). Als repräsentativer Meßparameter (vergl. 2-Punkt-Test) eignet sich dazu vor allem die reziproke Latenzzeit ($1/t_R$), da sie meßtechnisch gut zu erfassen ist. Zusätzlich wird in einigen Fällen die Dauer der Rötung (D_R) gemessen. Die getesteten Grundlagen lassen sich damit in einer Rangfolge ordnen.

An 28 - 58 Versuchspersonen werden 10 - 12 verschiedene Grundlagen mit 0,125% Nicotinsäurebenzylester verglichen. Außer den bisher untersuchten Grundlagen Vaseline (VAS), Polysynlansalbe (PS), wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe (WALK), Polyacrylatgel (PA), Salhumin Gel (SALHU), Polyethylenglykolsalbe (PEG) und Mikroemulsion (ME), werden zusätzlich eingesetzt: Wachssalbe (KS), Wollwachsalkoholsalbe (ALK), hydrophile Salbe (HS), wasserhaltige hydrophile Salbe (WHS) und wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe (PEGW).

Der Vergleich ist als einfacher Blocktest angelegt, bei dem jeder Proband alle Grundlagen bei der gleichen Konzentration testet. Damit lassen sich wiederum alle Salben miteinander vergleichen. Für die Auswertung werden Mittelwerte aus Doppelversuchen herangezogen. Alle möglichen Vergleichskombinationen werden mit dem t-Test für gepaarte Stichproben auf

Signifikanz geprüft (Tab. 19 und 20).

Durch die gegenüber den vorausgegangenen Versuchen deutlich erhöhte Probandenzahl lassen sich hier in der Mehrzahl der Fälle signifikante Wirkungsunterschiede finden. Um eine Beziehung zu den übrigen Testreihen herzustellen, wird zunächst Vaseline als Standard gewählt (Tab. 19 und 20, 1. Reihe). In Abb. 40 und 41 sind dazu die relativen Wirkungen bezogen auf Vaseline = 1 graphisch dargestellt (Signifikanzen der Wirkungsunterschiede siehe Tab. 19 und 20).

Für die reziproken Werte der Latenzzeit ergibt sich folgendes (Abb. 40): Polysynlansalbe zeigt im Vergleich zu Vaseline keinen signifikanten Wirkungsunterschied, während Wachssalbe deutlich schwächer wirksam ist (P= 0,001). Wollwachsalkoholsalbe ist ebenfalls schwächer wirksam, wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe dagegen übertrifft die Wirksamkeit der Vaseline. Im Falle der hydrophilen und der wasserhaltigen hydrophilen Salbe ist ebenfalls die wasserfreie Zubereitung schwächer und die wasserhaltige stärker wirksam als der Standard. Bei der Mikroemulsion werden deutlich längere Latenzzeiten gemessen als bei Vaseline. Für die Hydrogele Polyacrylatgel und Salhumin Gel ergibt sich ein schnellerer Wirkungseintritt. Polyethylenglykolsalben mit und ohne Wasser sind deutlich schwächer wirksam als der Standard Vaseline, Wasserzusatz scheint sich hier nicht auszuwirken.

Für die Dauer der Rötung (Abb. 41) ergeben sich im Vergleich zur Vaseline im wesentlichen die gleichen Aussagen. Abwei-

chend davon verhalten sich lediglich die Emulsionssalben, wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und wasserhaltige hydrophile Salbe, sie sind hier nicht besser wirksam als Vaseline.

Reziproke Werte der Latenzzeit unter Okklusivbedingungen

Mit dem Latenzzeittest werden an 20 Versuchspersonen 9 der aufgeführten Salbengrundlagen mit 0,5% Nicotinsäurebenzylester unter Okklusivbedingungen untersucht (siehe exp. Teil; I.2.2.3) (59). In Abb. 42 sind dazu die Mittelwerte der reziproken Latenzzeiten als Relativwerte zu Vaseline (Standard) graphisch dargestellt. Im großen und ganzen ergibt sich dabei die gleiche Rangfolge wie bei der einfachen Applikation (die Signifikanzen der Einzelvergleiche sind in Tab. 21 aufgeführt). Deutlich schwächer wirksam als Vaseline sind auch hier die Polyethylenglykolsalben und die Wachssalbe, annähernd gleich wirksam Wollwachsalkoholsalbe und hydrophile Salbe und stärker wirksam wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, wasserhaltige hydrophile Salbe und Polyacrylatgel. Deutlich abweichend verhält sich die Mikroemulsion, sie ist hier effektiver als Vaseline und liegt damit in der Gruppe der stark wirksamen Salben. Eine Veränderung ergibt sich auch bei den Polyethylenglykolsalben: Wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe erweist sich in diesen Versuchen als wirksamer als die wasserfreie Zubereitung ($P = 0{,}001$) und erreicht annähernd die Wirksamkeit der Wachssalbe.

Diese Befunde sind allerdings nur als Hinweise aufzufassen. Unterschiedliche Versuchsbedingungen (Konzentration und applizierte Menge) erlauben keine allgemein gültigen Aussagen über den Effekt einer Okklusion.

Tab. 19 : Wirksamkeitsvergleich über die reziproken Werte der Latenzzeit ($1/t_R$) bei einer Konzentration von 0,125% Nicotinsäurebenzylester
12 verschiedene Grundlagen
Mittelwerte aus 28-58 Versuchspersonen
+ : stärkere Wirkung; - : schwächere Wirkung
bezogen auf die jeweils oben stehende Grundlage

■ signifikanter Unterschied mit P = 0,1
◪ signifikanter Unterschied mit P = 0,2
□ kein signifikanter Unterschied mit P = 0,2
○ Wirksamkeitsvergleich nicht durchgeführt

	PS	KS	ALK	WALK	HS	WHS	ME	PA	SALHU	PEG	PEGW
VAS	+□	+■	+■	-■	+■	-■	+■	-■	-■	+■	+■
PS		+■	○	-■	+□	-■	+■	-■	○	+■	+■
KS			-■	-■	-■	-■	+■	-■	-■	+■	+◪
ALK				-■	□	-■	+■	-■	-■	+■	○
WALK					+■	-□	+■	+◪	+■	+■	+■
HS						-■	+■	-■	-■	+■	+■
WHS							+■	+■	+■	+■	+■
ME								-■	-■	+◪	+□
PA									+□	+■	+■
SALHU										+■	○
PEG											+□

Tab. 20 : Wirksamkeitsvergleich über die Dauer der Rötung (D_R) bei einer Konzentration von 0,125% Nicotinsäurebenzylester
10 verschiedene Grundlagen
Mittelwerte aus 28 Versuchspersonen
+ : stärkere Wirkung; - : schwächere Wirkung
bezogen auf die jeweils oben stehende Grundlage

■ signifikanter Unterschied mit P = 0,1
□ kein signifikanter Unterschied mit P = 0,2

	KS	ALK	WALK	HS	WHS	ME	PA	SALHU	PEG
VAS	+■	+■	+□	+■	+□	+■	-■	-■	+■
KS		-■	-■	-■	-■	+■	-■	-■	+■
ALK			-■	+■	-□	+■	-■	-■	+■
WALK				+■	+□	+■	-■	-■	+■
HS					-■	+■	-■	-■	+■
WHS						+■	-■	-■	+■
ME							-■	-■	+□
PA								-□	+■
SALHU									+■

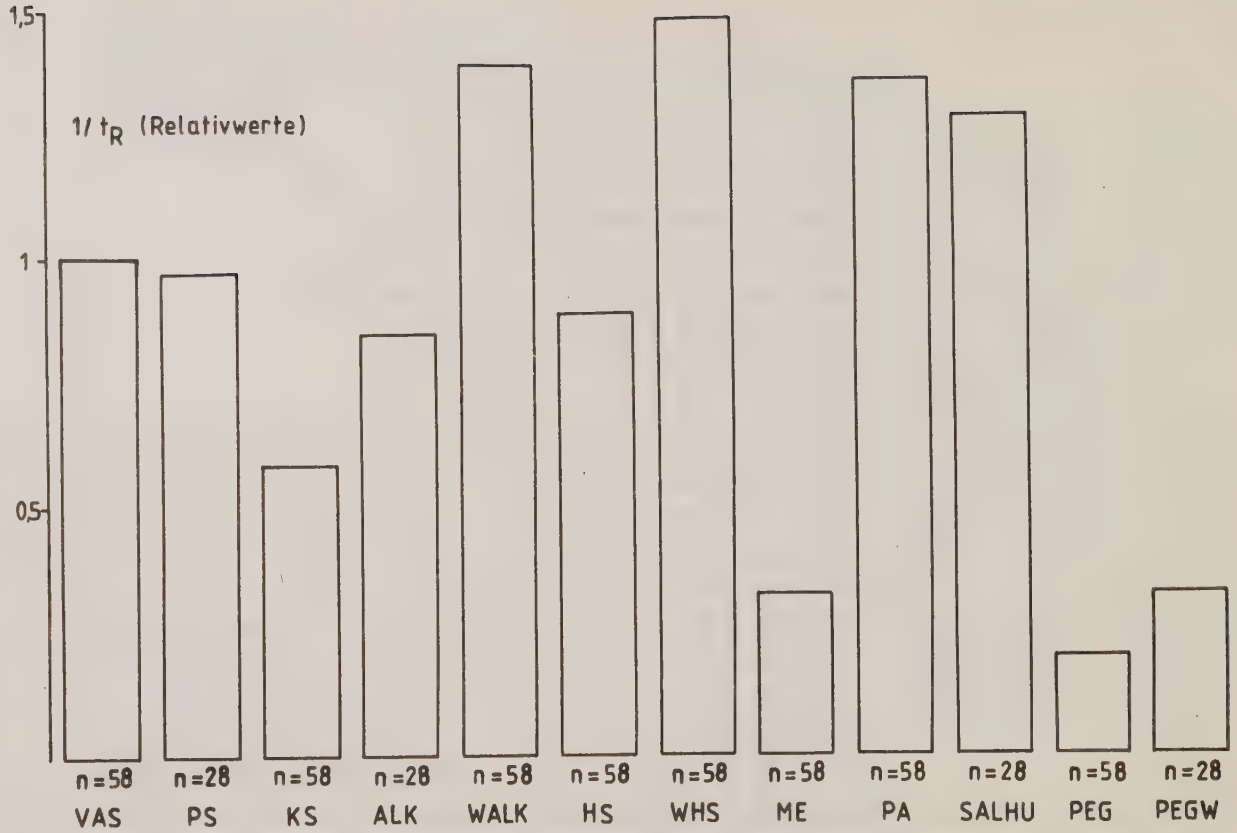


Abb. 40 : Relativwerte der reziproken Latenzzeit ($1/t_R$) bezogen auf Vaseline als Standard=1
Vergleich von 12 Salbengrundlagen mit 0,125% Nicotinsäurebenzylester an 28 bzw. 58 Versuchspersonen

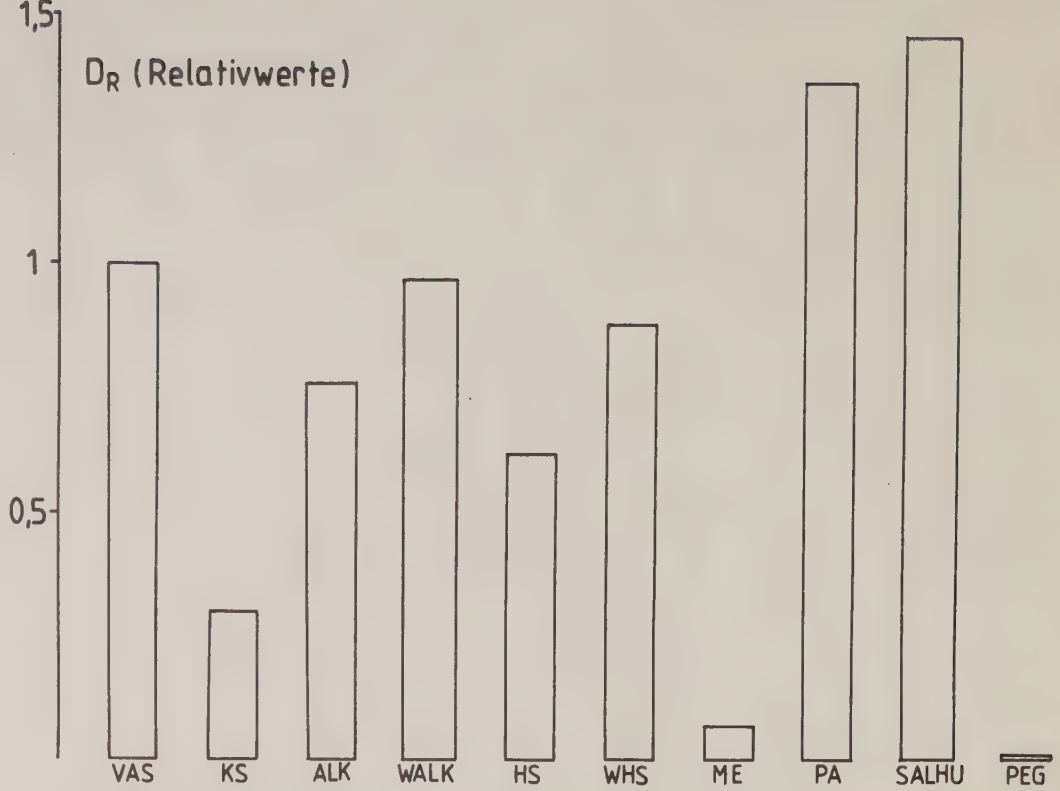


Abb. 41 : Relative Rötungsdauer (D_R) bezogen auf Vaseline als Standard = 1
Vergleich von 10 Salbengrundlagen mit 0,125% Nicotinsäurebenzylester
an 28 Versuchspersonen

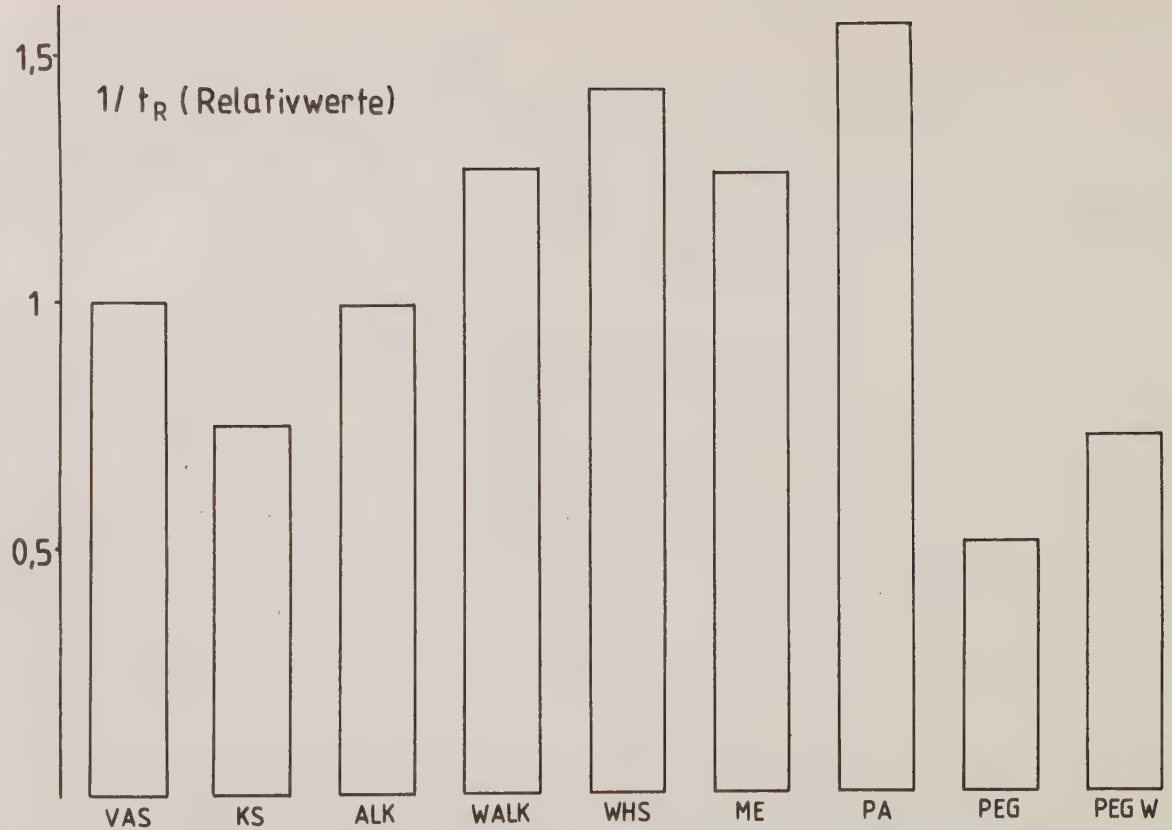


Abb. 42: Relativwerte der reziproken Latenzzeit ($1/t_R$) bezogen auf Vaseline als Standard; Okklusivbedingungen, Vergleich von 9 Salbengrundlagen, 0,5% Nicotinsäurebenzylester Mittelwerte aus 20 Versuchspersonen

Tab. 21 : Wirksamkeitsvergleich über die reziproken Werte der Latenzzeit ($1/t_R$) unter Okklusivbedingungen, bei einer Konzentration von 0,5% Nicotinsäurebenzylester 9 verschiedene Grundlagen
Mittelwerte aus 20 Versuchspersonen
+ : stärkere Wirkung ; - : schwächere Wirkung
bezogen auf die jeweils oben stehende Grundlage

■ signifikanter Unterschied für P = 0,1
□ kein signifikanter Unterschied für P = 0,2

	KS	ALK	WALK	WHS	ME	PA	PEG	PEGW
VAS	+■	+□	-■	-■	-■	-■	+■	+□
KS		-■	-■	-■	-■	-■	+■	+□
ALK			-■	-■	-■	-■	+■	+■
WALK				-■	+□	-■	+■	+■
WHS					+■	-■	+■	+■
ME						-■	+■	+■
PA							+■	+■
PEG								-■

Zusammenfassung der Befunde aus dem 1-Punkt-Test

Unter Einbeziehung der beiden Parameter $1/t_R$ und D_R lassen sich die Grundlagen nach ihrer Wirksamkeit einordnen. Die entstehende Rangfolge ist in Tab. 22 aufgeführt.

Bei den reziproken Werten der Latenzzeit ergeben sich die niedrigsten Wirksamkeiten für die Mikroemulsion und vor allem für die wasserfreie Polyethylenglykolsalbe (dies stimmt mit den Ergebnissen aus dem 2-Punkt-Test überein). Dabei unterscheidet sich die wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe nicht von der entsprechenden wasserfreien Zubereitung und der Mikroemulsion.

Die beste Wirksamkeit zeigen wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, wasserhaltige hydrophile Salbe und nicht ganz so ausgeprägt Polyacrylatgel und Salhumin Gel. Die beiden Emulsionsgrundlagen unterscheiden sich ebenso wie die Hydrogele nicht voneinander. Insgesamt sind diese Salben stärker wirksam als Vaseline.

Von mittlerer Wirksamkeit sind Vaseline, Polysynlansalbe, die Absorptionsgrundlagen und die Wachssalbe. Die wasserfreie Wollwachsalkoholsalbe und die wasserfreie hydrophile Salbe unterscheiden sich nicht voneinander, sind jedoch schwächer wirksam als Vaseline. Die Wirksamkeit der Polysynlansalbe liegt im Bereich der Vaseline und der hydrophilen Salbe und ist von den beiden nicht zu unterscheiden. Die Wachssalbe dagegen ist schwächer wirksam.

Unter Okklusivbedingungen ergibt sich im wesentlichen eine ähnliche Rangfolge mit Ausnahme der Mikroemulsion, diese ist

dabei deutlich wirksamer als Vaseline, Wollwachsalkoholsalbe, Wachssalbe und die Polyethylenglykolsalben.

Insgesamt ergibt sich aus diesen Versuchen ein detaillierteres Bild. Die ermittelte Reihenfolge stimmt für fast alle Grundlagen mit der entsprechenden Rangfolge des 2-Punkt-Tests überein. Eindeutig abweichend verhält sich lediglich Salhumin Gel.

Bei der Dauer der Rötung lassen sich die Salben etwa den gleichen Gruppen nämlich stark, mittel und schwach wirksam zuordnen, wie bei den reziproken Werten der Latenzzeiten. Für die Mehrzahl der Grundlagen ergibt sich darüber hinaus die gleiche Rangfolge. Ausnahmen stellen wie beim 2-Punkt-Test in erster Linie die beiden Hydrogele dar.

Abweichungen gegenüber der reziproken Latenzzeit ergeben sich für die Emulsionssalben: Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und wasserhaltige hydrophile Salbe sind hier nicht von der Vaseline zu unterscheiden und daher bei diesem Parameter nur von mittlerer Wirksamkeit. Die schwach wirksamen Zubereitungen Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe lassen sich über die Dauer der Rötung nicht differenzieren. Insgesamt aber stimmen die über die Rötungsdauer gewonnenen Ergebnisse mit dem entsprechenden 2-Punkt-Test (Tab. 18; D_R) überein.

Tab. 22: Rangfolge der Wirksamkeit nicotinsäurebenzylesterhaltiger Salben im 1-Punkt-Test
9 bzw. 10 Versuchspersonen
0,125% Nicotinsäurebenzylester
in Vaseline (VAS), Polysynlansalbe (PS), Wachssalbe (KS), Wollwachsalkoholsalbe (ALK), hydrophile Salbe (HS), wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (WALK), wasserhaltige hydrophile Salbe (WHS), Mikroemulsion (ME), Polyacrylatgel (PA), Salhumin Gel (SALHU), Polyethylenglykolsalbe (PEG), wasserhaltige Polyethylengylkolsalbe (PEGW)

Meßparameter $1/t_R$:

WALK = WHS > PA = SALHU > VAS = PS > HS = ALK = PS > KS > ME = PEGW > PEG = PEGW

Meßparameter D_R :

PA = SALHU > WALK = WHS = VAS > ALK = WHS > HS > KS > ME = PEG

Tab. 23 : Rangfolge der Wirksamkeit nicotinsäurebenzylesterhaltiger Salben unter Okklusivbedingungen
im 1-Punkt-Test
20 Versuchspersonsn
0,5% Nicotinsäurebenzylester (Versuchsbedingungen siehe I.2.2.3 exp. Teil)

Meßparameter $1/t_R$

PA > WHS > WALK = ME > VAS = ALK > KS = PEGW > PEG

6. Zusammenfassung In-vivo-Versuche

Wirksamkeitsunterschiede

Die Wirksamkeit des Nicotinsäurebenzylesters äußert sich vor allem in Temperaturerhöhung und Rötung der Haut. Diese werden mit den eingesetzten Temperatur- und Rötungsparametern quantitativ erfaßt. Es zeichnen sich dabei 3 Wirksamkeitsgruppen ab: Die Hydrogele wie Polyacrylatgel [+)] sind stark wirksam. Die Emulsionssalben wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und wasserhaltige hydrophile Salbe stellen hinsichtlich ihrer Effektivität einen Übergang zu den lipophilen Grundlagen wie Vaseline, Polysynlansalbe, Wachssalbe und den Absorptionsgrundlagen Wollwachsalkoholsalbe und hydrophile Salbe dar. Letztere Grundlagentypen sind von mittlerer Wirksamkeit. Schwach wirksam sind in allen Fällen Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe. Für die untersuchten Grundlagen ergibt sich dabei insgesamt folgende Rangfolge:

Starke Wirksamkeit	HYDROGELE
	EMULSIONSGRUNDLAGEN
Mittlere Wirksamkeit	LIPOPHILE GELE und
	ABSORPTIONSGRUNDLAGEN
	MIKROEMULSION
Schwache Wirksamkeit	POLYETHYLENGLYKOLSALBEN

[+)] Die gute Wirksamkeit der Hydrogele scheint weitgehend vom Gelbildner unabhängig zu sein (59).

Diese Wirksamkeitsunterschiede dürften in erster Linie auf unterschiedliche Penetrationsgeschwindigkeitskonstanten des Nicotinsäurebenzylesters aus verschiedenen Salbengrundlagen zurückzuführen sein. Die Auswertung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven erlaubt auch eine quantitative Beurteilung der relativen Bioverfügbarkeit. Dabei ergeben sich bezogen auf Vaseline (= 1 mittlere Wirksamkeit) z.B. relative dauer- bzw. zeitbezogene Bioverfügbarkeitsfaktoren zwischen 11,2 (für stark wirksame Grundlagen) und 0,2 (für schwach wirksame Grundlagen).

Hierbei kann man im Falle der vorliegenden Lösungssalben davon ausgehen, daß sich die verschiedenen Grundlagen vor allem auf den Verteilungskoeffizienten des Nicotinsäurebenzylesters zwischen Stratum corneum und Salbe auswirken. Entsprechende Versuche sollen helfen diese Hypothese auf ihre Tragfähigkeit zu prüfen. Zu bearbeiten und zu diskutieren bleibt darüber hinaus, in wieweit sich Unterschiede in den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Grundlagen über den Verteilungskoeffizienten hinaus auswirken können, z.B. auf die Freigabegeschwindigkeit des Arzneistoffes aus den Grundlagen, die Spreitung der Grundlagen auf der Haut, die Hydratation der Haut in Abhängigkeit von den applizierten Grundlagen und die Abweisungs- bzw. Rückstandsrate der Grundlagen auf der Haut.

Vergleich der Wirksamkeitsparameter

In der Mehrzahl der Fälle ergeben die einzelnen Meßparameter übereinstimmende Rangfolgen bei der Bewertung der Wirksamkeit verschiedener Grundlagen. Von den Rötungsparametern erweist sich der reziproke Wert der Latenzzeit ($1/t_R$) als besonders geeignet, da hier bei einfacher Meßtechnik Wirkungsunterschiede in Übereinstimmung mit der Mehrzahl der übrigen Parameter erfaßt werden können. Mit Einschränkungen gilt dies auch für die beiden anderen Rötungsparameter, Dauer der Rötung (D_R) und Flächenausbreitung der Rötung (F_R). Diese ergeben bei den Hydrogelen Abweichungen von der Gesamtrangfolge, wobei die Flächenausbreitung der Rötung in besonderem Maße von dem Spreitungsvermögen der Grundlage beeinflußt werden dürfte: In vielen Fällen bewirken die Hydrogele bei geringerer Flächenausbreitung des Erythems eine deutlich längere Rötungsdauer. Demnach scheinen D_R und F_R bestimmte Eigenschaften der Salbengrundlagen speziell zu erfassen.

Die Temperaturparameter, Tmax, $1/t_{Tmax}$, D_T und F/T sind bis auf die reziproke Zeit bis zum Erreichen der maximalen Temperaturerhöhung ($1/t_{Tmax}$) für die Beurteilung der Wirkungsunterschiede ebenfalls geeignet. Dabei weisen die Parameter Tmax und D_T eine größere Trennschärfe auf als die Rötungsparameter. Der Meßparameter $1/t_{Tmax}$ unterliegt besonders starken Schwankungen und differenziert nicht zuletzt deshalb weniger gut.

Testreihen

Aus den verschiedenen Testreihen mit ein, zwei oder mehreren Konzentrationen ergeben sich im allgemeinen gleichartige Aus-

sagen über die Bioverfügbarkeit. Abweichend verhält sich zumindest bei einigen Konzentrationen Salhumin Gel. Dies deutet auf eine unterschiedliche Steigung seiner Konzentrations-Wirkungs-Kurve im Vergleich zur jeweiligen Standardzubereitung hin. Ursache dafür dürften Arzneistoffe sein, die neben Nicotinsäurebenzylester in Salhumin Gel enthalten sind (Tab. 2) und zum Teil keratolytische Eigenschaften haben.

III. Physikalisch-chemische Charakterisierung der Salben

1. Verhalten der Salbengrundlagen auf der Haut

Allgemeines

Salbengrundlagen als Arzneistoffträger sind keine indifferenten Hilfsstoffe. Sie können auf der Haut eine Reihe von Eigenwirkungen entfalten wie z.B. (91) Hydratisierung durch Okklusionseffekte (vor allem bei lipophilen Grundlagen und W/O-Emulsionen), Kühlwirkung (Hydrogele, O/W-Emulsionen) und Dehydratisierung (z.B. bei hydrophilen Gelen). Für die Beurteilung von Vehikeln spielen ferner Spreitung auf der Haut und Abweisungsrate eine Rolle. Diese vehikelspezifischen Eigenwirkungen und Eigenschaften können sich auf die Wirksamkeit arzneistoffhaltiger Zubereitungen auswirken. Zur Charakterisierung des Verhaltens der untersuchten Grundlagen auf der Haut wird die Spreitung, also die flächige Ausbreitung, und über die Abweisungsrate das Eindringvermögen in vivo untersucht. Im Fall der Spreitung werden zusätzlich In-vitro Versuche durchgeführt.

1.1 Spreitung

Spreitung in vivo

Die Spreitung von Grundlagen auf der Haut ist einerseits abhängig von der Zusammensetzung und der Gelstruktur der zu prüfenden Grundlage, andererseits aber auch eine Funktion der Beschaffenheit des Stratum corneum (normale, seborrhoische, sebostatische Haut). Für die Bestimmung der Spreitung (II.2.1, exp. Teil) werden von jeder Grundlage 0,012 cm^3 mit einer Schablone kreisförmig auf die Haut aufgetragen. Nach 90 Minuten wird der Durchmesser des Salbenflecks erneut bestimmt.

In Abb. 43 sind die Spreitungswerte (Durchmesser nach 90 Minuten) der einzelnen Grundlagen dargestellt (Mittelwerte aus 5 Versuchspersonen). Dabei lassen sich die Grundlagen nach ihrem Spreitungsvermögen einteilen in gut spreitende Grundlagen (Polysynlansalbe, Wachssalbe, hydrophile Salbe und Mikroemulsion), Salben von mittlerem Spreitvermögen (Vaseline, Wollwachsalkoholsalbe, wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und wasserhaltige hydrophile Salbe) und Grundlagen, bei denen auf der Haut keine Spreitung nachgewiesen werden kann (Polyacrylatgel, Polyethylenglykolsalbe und wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe). Die Spreitungsunterschiede zwischen den Gruppen sind signifikant, während innerhalb der Gruppen kein Unterschied erkennbar ist ($P = 0,2$; Tab. 24).

Zur Erklärung des unterschiedlichen Spreitungsverhaltens müssen verschiedene physikalisch-chemische Eigenschaften in Betracht gezogen werden. Einerseits scheint die Oberflächen-

spannung der flüssigen Anteile von wesentlicher Bedeutung zu sein (Tab. 25): Isoparaffin und die flüssige Phase der Mikroemulsion besitzen die niedrigsten Oberflächenspannungen (28 und 29 mN/m), die dazugehörigen Grundlagen Polysynlansalbe und Mikroemulsion liegen dementsprechend in der Gruppe der gut spreitenden Grundlagen. Ähnliche Verhältnisse können auch für hydrophile Salbe mit ihrem hohen Gehalt an Emulgatoren angenommen werden (31 mN/m). Umgekehrt besitzt flüssiges Polyethylenglykol eine recht große Oberflächenspannung (40,6 mN/m), es erfolgt keine Spreitung der Grundlage. Dies gilt auch für Polyacrylatgel, dessen flüssige Phase allerdings zum großen Teil rasch verdunstet, so daß sich deren niedrige Oberflächenspannung nicht auswirken kann. Eine Ausnahme stellt Wachssalbe dar: Obwohl Erdnußöl, Hauptbestandteil der Wachssalbe, keine besonders niedrige Oberflächenspannung besitzt (33,6 mN/m) spreitet die Grundlage auf der Haut gut. Die Spreitungsunterschiede lassen sich daher nicht alleine über diesen Parameter erklären. Vielmehr ist mindestens gleichbedeutend die Gelfestigkeit, charakterisiert durch die Blutungszahl [+)] (Abb. 44), zu berücksichtigen. Hier zeigt sich für die Gruppe der gut- und mittelspreitenden Grundlagen gute Übereinstimmung mit den In-vivo-Befunden. So werden für Polysynlansalbe, Wachssalbe, hydrophile Salbe und Mikroemulsion deutlich größere Blutungs-

---

+) Die Blutungszahl, Konventionsmethode zur Bestimmung der Gelfestigkeit (66), wird über den Austritt flüssiger Gelanteile nach Aufbringen der Grundlagen auf definiertes Filterpapier und Lagerung bei 32°C bestimmt (siehe II.1.1.4, exp. Teil).

zahlen als für die übrigen Grundlagen ermittelt.

Das Schmelzverhalten der Grundlagen übt dagegen anscheinend keinen Einfluß auf das Spreitungsverhalten der Grundlagen aus. So verflüssigt sich Polysynlansalbe bei 86°C, Mikroemulsion bei 31°C. Beide Grundlagen ergeben jedoch gute Spreitungswerte. Ebenso zeigt sich kein Zusammenhang zwischen den Quasiviskositäten und der Spreitung der Grundlagen. Bei Wachssalbe und Wollwachsalkoholsalbe werden ähnliche Quasiviskositäten gemessen (112 und 116 mPa · s; Tab. 40), die Spreitungswerte unterscheiden sich allerdings beträchtlich.

Bei den einzelnen Probanden zeigen die Spreitungswerte eine deutliche Abhängigkeit vom Hauttyp. Bei normaler Haut wird die Spreitung durch den Lipidfilm auf der Hautoberfläche stark verringert, die Unterschiede nehmen ab (SO,53). Bei trockener Haut dagegen können sich die Spreitungseigenschaften der Grundlage voll entfalten. Es ergeben sich daher bei diesen Probanden deutlichere Unterschiede (Tab. 26).

Spreitung in vitro

In vitro werden Spreitungsversuche einmal auf einer polaren Oberfläche (Glas) und einer apolaren Oberfläche (Polytetrafluorethylen) durchgeführt. Dabei zeigen sich Unterschiede in Abhängigkeit vom verwendeten Material. Die Spreitungswerte sind in Abb. 55 (exp. Teil) aufgezeichnet (Mittelwerte aus 6 Versuchen für jede Grundlage; s rel. zwischen 1 und 6%; Tab. 64 bzw. 65, exp. Teil). Dabei ergibt sich weder für die Spreitungswerte auf Polytetrafluorethylen noch auf Glas eine

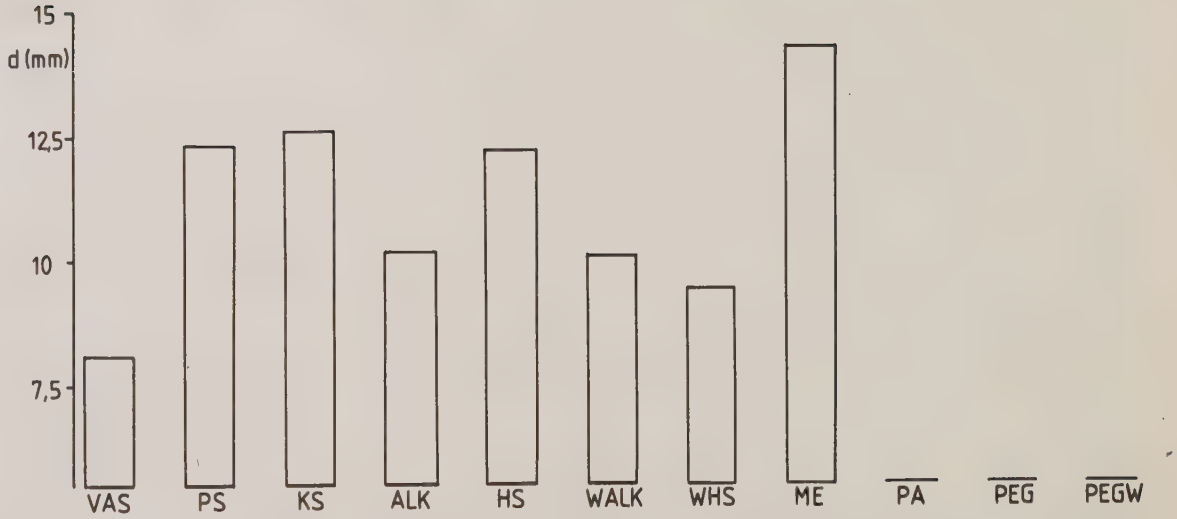


Abb. 43: Spreitung der Salben auf der Haut; Durchmesser der aufgetragenen Salbe nach 90 Minuten
Mittelwerte aus 5 Versuchspersonen

\+ Anfangsdurchmesser 5,5 mm

Tab. 24 : Unterschiede in den Spreitungsversuchen auf der Haut [+)]

+ : stärkere Spreitung; -: schwächere Spreitung als die jeweils darüber stehende Grundlage
5 Versuchspersonen, t-Test für gepaarte Stichproben

▣ signifikant unterschiedlich für P = 0,2
□ nicht signifikant unterschiedlich für P = 0,2

	PS	KS	ALK	HS	WALK	WHS	ME
VAS	-▣	-▣	-□	-□	-□	-□	-▣
PS		-□	+▣	+□	+▣	+▣	-▣
KS			+▣	+□	+▣	+▣	-□
ALK				-□	-□	+□	-▣
HS					+▣	+▣	-□
WALK						+▣	-▣
WHS							-▣

[+)] Für PA, PEG und PEGW ergibt sich keine meßbare Spreitung

Tab. 25 Oberflächenspannung der flüssigen Salbenbestandteile bei 25 ± 1°C

	σ (mN/m)
dickflüssiges Paraffin	32,2
dünnflüssiges Paraffin	30,5
Isoparaffin	28,0
Erdnußöl	33,6
flüssige Phase der hydrophilen Salbe [+)]	31,0
flüssige Phase der Mikroemulsion	29,0
flüssige Phase des Polyacrylatgels	25,8
Polyethylenglykol 400	40,6

[+)] Dickflüssiges Paraffin gesättigt mit emulgierendem Cetylstearylalkohol

Tab. 26: Spreitung der Grundlagen auf der Haut. Durchmesser (d,mm) der kreisförmig aufgetragenen Salben nach 90 Minuten
5 Versuchspersonen, Mittelwerte aus 2 Versuchen

Versuchsperson	1	2	3	4	5	d	F(cm^2)
Hauttyp	normal			trocken			
Salbengrundlage							
VAS	8,4	7,4	7,0	10,9	7,2	8,2	0,53
PS	11,4	6,9	6,5	19,3	17,8	12,4	1,21
KS	8,8	8,0	7,9	16,1	22,0	12,6	1,25
ALK	9,2	8,4	7,5	10,1	15,5	10,1	0,80
HS	8,7	6,9	7,5	15,4	22,6	12,2	1,17
WALK	7,9	7,2	6,7	12,9	17,3	10,4	0,85
WHS	6,8	6,6	6,0	12,1	15,8	9,5	0,71
ME	20,8	8,6	9,7	16,0	16,6	14,3	1,61
PA	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	0,24 +)
PEG	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	0,24
PEGW	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	0,24

+) Ausgangsfläche

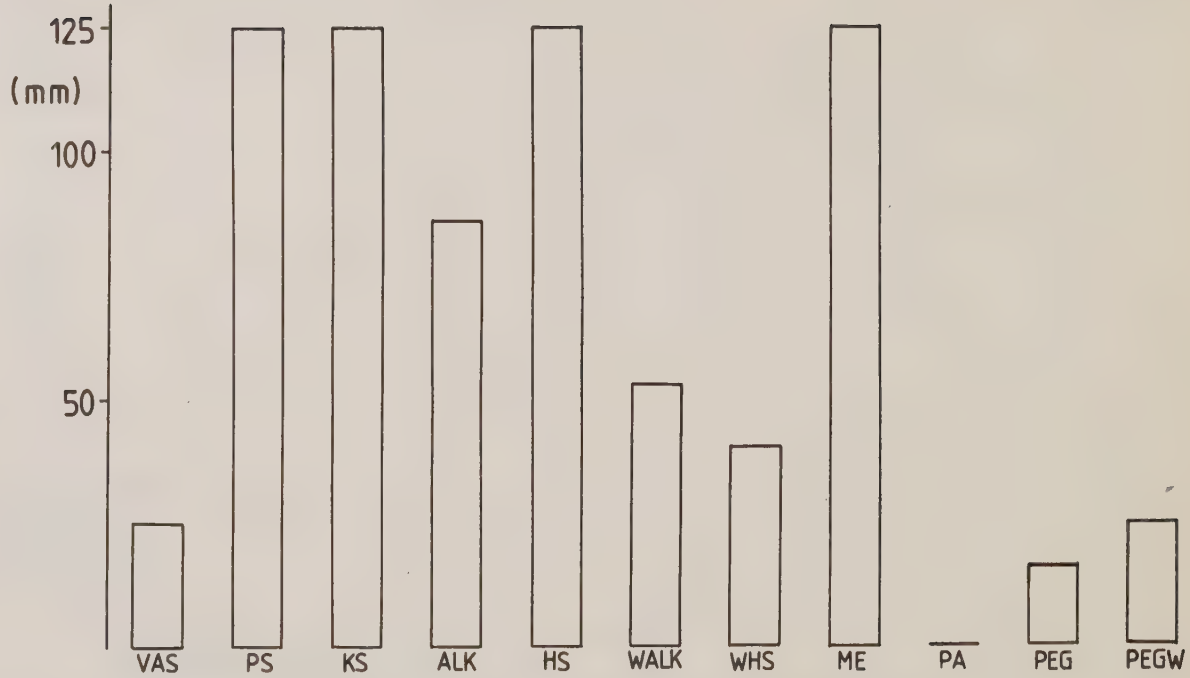


Abb. 44 : Blutungszahlen der untersuchten Salbengrundlagen (mm)
Versuchstemperatur: 32 ± 1°C

durchgehende Übereinstimmung mit den Ergebnissen der In-vivo-Versuche.

1.2 Abweisungsrate

Zur Bestimmung der Abweisungsrate der Grundlagen auf der Haut werden jeweils 20 mg der Grundlage auf eine Fläche von 7 cm^2 verteilt. Nach 90 Minuten wird der auf der Haut verbliebene Salbenrest abgezogen, ausgewogen und in Prozent der aufgetragenen Menge angegeben. In Abb. 45 sind diese Werte für die einzelnen Grundlagen aufgezeichnet.

Von den Grundlagen ohne flüchtige Bestandteile dringen Vaseline und hydrophile Salbe signifikant schlechter in das Stratum corneum ein als alle übrigen Grundlagen. Es ergeben sich Abweisungsraten von 66 bzw. 71% der aufgetragenen Salbenmenge (Abb. 45; Tab. 68, exp. Teil). Von Polyethylenglykolsalbe verbleiben immerhin noch 53% auf der Hautoberfläche, von der Wollwachsalkoholsalbe 51%. Im Falle von Polysynlansalbe können dagegen nach 90 Minuten nur noch 36% der applizierten Salbenmenge zurückgewogen werden, bei der Wachssalbe sind es noch 45%. Polysynlansalbe und Wachssalbe dringen demnach recht gut in das Stratum corneum ein; dies steht im Einklang mit ihrem guten Spreitungsvermögen. Von der gut spreitenden hydrophilen Salbe wird allerdings nur ein geringer Anteil vom Stratum corneum aufgenommen. Umgekehrt dringen von nicht spreitenden Grundlagen (Polyethylenglykolsalben) immerhin etwa 50% in das Stratum corneum ein. Spreitung und Abweisungsrate bzw. Ein-

dringvermögen eines Vehikels scheinen demnach nicht grundsätzlich parallel zu gehen.

Bei Grundlagen die flüchtige Bestandteile enthalten sind Aussagen schwieriger zu treffen. Die auf der Haut verbliebenen Rückstandsraten (Abb. 45) lassen sich einerseits als Rückstand des nicht flüchtigen Anteils betrachten und müßten entsprechend korrigiert werden. Dementsprechend ist auch bei Polyacrylatgel der Rückstand besonders klein (nicht flüchtige Anteile = 10%; Rückstand = 6%), deutlich größer dagegen bei wasserhaltiger Polyethylenglykolsalbe (nicht flüchtige Anteile = 90%; Rückstand = 35%) und wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe (nicht flüchtige Anteile 50%; Rückstand = 37%). Dabei ist aus dieser W/O-Emulsion die Abdunstung des Wassers sicher stärker behindert als aus der O/W-Emulsion wasserhaltige hydrophile Salbe. Auf der anderen Seite ist aber auch davon auszugehen, daß ein Teil z.B. des Wassers von der Haut aufgenommen wird [+)], so daß Messungen der Rückstandsraten bei Grundlagen mit flüchtigen Bestandteilen prinzipiell wenig Anhaltspunkte über das Eindringvermögen von Salbenbestandteilen liefern. Darüber hinaus ist die große Streuung der Meßwerte bei diesen Grundlagen zu berücksichtigen.

Bei der Beurteilung der Wirksamkeitsunterschiede der Grundla-

---

+) Dies ist abhängig vom eingesetzten Grundlagentyp (Hydrogel, O/W-, W/O-Emulsion) und zusätzlich von der Art der Auftragung.

lagen ist sowohl das Spreitungs- wie auch das Eindringvermögen zu berücksichtigen (76). Ein gutes Spreitungsvermögen von Grundlagen mit nicht flüchtigen Bestandteilen bedeutet dabei einen engen Kontakt mit der Hautoberfläche (für Grundlagen mit flüchtigen Bestandteilen z.B. Hydrogele ist dies auch ohne Spreitung gewährleistet). Andererseits wird durch gute Spreitung der Grundlagen die pro Fläche aufgetragene Menge und damit auch die pro Rezeptor verfügbare Menge verkleinert. Das Eindringvermögen von Salben bzw. Salbenbestandteilen in das Stratum corneum kann andererseits die Zusammensetzung dieser Hautschicht verändern und damit auf Parameter wie Löslichkeit des Arzneistoffes in der Barriere, den Verteilungskoeffizienten Stratum corneum/Vehikel und den Diffusionskoeffizienten in der Barriere Einfluß nehmen (14,48,70).

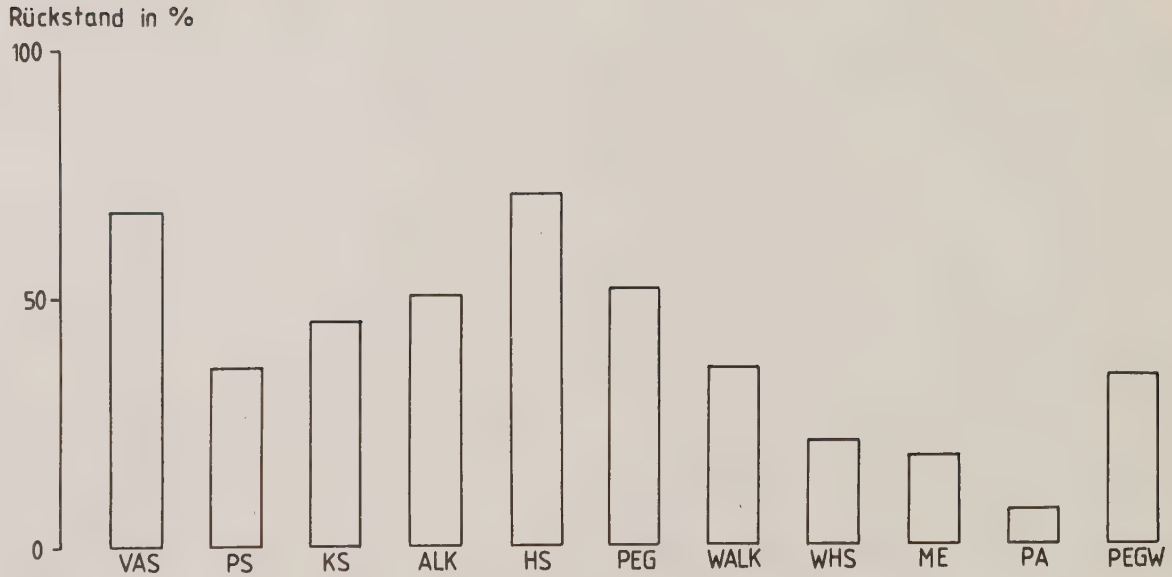


Abb. 45 : Abweisungsrate der wasserfreien Salbengrundlagen und Rückstandsrate der wasserhaltigen Grundlagen nach 90 Minuten

Mittelwerte aus 6 Versuchspersonen

Tab. 27: Unterschiede in den Abweisungsraten der wasserfreien Grundlagen

Mittelwerte aus 6 Versuchspersonen, t-Test für gepaarte Stichproben

+ : stärkere Abweisungsrate ; -: schwächere Abweisungsrate als die jeweils darüber stehende Grundlage

■ signifikant unterschiedlich für P = 0,2
□ kein signifikanter Unterschied für P = 0,2

	PS	KS	ALK	HS	PEG
VAS	+■	+■	+■	-□	+■
PS		-□	-□	-■	+□
KS			-□	-■	-■
ALK				-■	-□
HS					+□

Tab. 28: Unterschiede in den Rückstandsraten der wasserhaltigen Salbengrundlagen
Mittelwerte aus 6 Versuchspersonen, t-Test für gepaarte Stichproben

+ : Rückstandsrate größer; - : Rückstandsrate kleiner als die der jeweils darüber stehenden Grundlage

■ signifikant unterschiedlich für P = 0,2
□ kein signifikanter Unterschied für P = 0,2

	WHS	ME	PA	PEGW
WALK	+□	+□	+■	+□
WHS		+□	+■	-□
ME			+■	-■
PA				-■

2. Einfluß der Salbengrundlagen auf Löslichkeit und Verteilungsverhalten von Nicotinsäurebenzylester

2.1 Bedeutung von Löslichkeit und Verteilungsverhalten für die Penetration

Für die Arzneistoffaufnahme durch die Haut stellt das Stratum corneum die entscheidende Barriere dar, so daß die Diffusion des Arzneistoffes durch das Stratum corneum (=Penetration) i.a. den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Arzneistoffaufnahme darstellt. Für die untersuchten Lösungssalben gilt dabei für die Penetrationsgeschwindigkeitskonstante entsprechend Gl. 11 (Das Stratum corneum wird dabei als homogene Barriere betrachtet):

$$kp = \frac{D \cdot F \cdot VK}{d \cdot V_V} \qquad \text{(Gl. 16)}$$

Die eingesetzte Grundlage nimmt dabei vor allem über den Verteilungskoeffizienten Barriere/Vehikel Einfluß auf die Arzneistoffaufnahmegeschwindigkeit [+)]. Der Verteilungskoeffizient Stratum corneum/Vehikel kann allerdings nur in Einzelfällen (78) bestimmt werden, außerdem sind solche Befunde nicht immer zweifelsfrei (96). Es werden daher vielfach Versuche unternommen, das Stratum corneum durch einen geeigneten Hilfsstoff, der dessen Eigenschaften möglichst nahe kommt, zu simulieren. Dabei setzt man bevorzugt mäßig polare Flüssigkeiten wie

---

+) Darüber hinaus kann durch spezifische Bindung oder Dissoziation der verfügbare Anteil des Arzneistoffes f_v durch das Vehikel variiert werden.

n-Octanol, Isopropylmyristat und Olivenöl ein (37,57,80). Auf Grund des komplexen Aufbaues des Stratum corneum ist allerdings keine gute Übereinstimmung mit dem gesuchten Verteilungskoeffizienten Stratum corneum/Grundlage zu erwarten.

Wie die Verteilungskoeffizienten stellen indirekt aber auch die Sättigungslöslichkeiten des Arzneistoffes in den verschiedenen Grundlagen ein Maß für seine Affinität zum Vehikel dar, da entsprechend Gl. 17 für eine gegebene Temperatur und bei einem Aktivitätskoeffizienten von annähernd 1 gilt (11):

$$VK = \frac{a_{org}}{a_w} = \frac{c_{org}}{c_w} = \frac{c_{s\ org}}{c_{s\ w}} = \text{konstant} \qquad \text{(Gl. 17)}$$

Angewandt auf den Verteilungskoeffizienten Barriere/Vehikel ergibt sich damit:

$$VK = \frac{a_{Barriere}}{a_{Vehikel}} = \frac{c_{Barriere}}{c_{Vehikel}} = \frac{c_{s\ Barriere}}{c_{s\ Vehikel}} = \text{konstant} \qquad \text{(Gl. 18)}$$

Für einen gegebenen Arzneistoff kann man für eine Reihe von Grundlagen in erster Näherung annehmen, daß die Sättigungslöslichkeit in der Barriere (Stratum corneum) konstant ist. Über die Sättigungslöslichkeiten in den verschiedenen Grundlagen lassen sich entsprechend Gl. 18 die zu erwartenden Verteilungskoeffizienten und damit auch die entsprechenden Penetrationsgeschwindigkeitskonstanten vergleichen:

$$kp = \frac{D \cdot F \cdot c_{s\ Barriere}}{V_V \cdot d} \cdot \frac{1}{c_{s\ Salbe}}$$

$$= k' \cdot \frac{1}{c_{s\ Salbe}} \qquad \text{(Gl. 19)}$$

Zusätzlich zu diesen Untersuchungen soll überprüft werden, ob der Verteilungskoeffizient zwischen Keratin, Hauptbestandteil des Stratum corneum (5,67), und dem Vehikel ähnliche Aussagen ermöglichen. Dieser Verteilungskoeffizient könnte in gewissem Umfang Einblick in das Penetrationsvermögen von verschiedenen Arzneistoffen (z.B. innerhalb einer homologen Reihe) geben, was aus Messungen der Sättigungslöslichkeit im Vehikel nicht möglich ist.

2.2 Sättigungslöslichkeiten in den Salbengrundlagen bzw. deren flüssigen Bestandteilen

Die Bestimmung der Sättigungslöslichkeiten erfolgt zunächst in den flüssigen Bestandteilen der Grundlagen und wird für Vaseline und Wachssalbe zusätzlich über den Verteilungskoeffizienten zwischen Grundlage und Wasser gemäß Gl. 17 überprüft.

Dabei ergibt sich für den Nicotinsäurebenzylester geringe Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln wie Wasser (0,07 g/100 ml;Tab. 29), eine mäßige Löslichkeit in apolaren Flüssigkeiten wie Paraffin und Isoparaffin (2,5 und 5,3 g/100ml), sowie in Isopronanol-Wassermischung. Mit Isopropylmyristat, Erdnußöl, Polyethylenglykol

400 und dem Polyethylenglykoltensid ist der Ester im Verhältnis 1:1 mischbar.

Der Einfluß der übrigen Bestandteile der Vehikel auf die Löslichkeit des Esters kann zunächst nicht abgeschätzt werden. Im Fall der Vaseline wird die Sättigungslöslichkeit entsprechend dem Anteil an flüssigem Paraffin errechnet (ca. 3%). Über den experimentell bestimmten Verteilungskoeffizienten zwischen Vaseline und Wasser kann die Sättigungslöslichkeit in der Vaseline nach Gl. 17 ermittelt werden: $c_{s\ Vaseline} = VK \cdot c_{s\ Wasser}$.

Es ergibt sich praktisch der gleiche Wert. Damit tragen die in der Vaseline enthaltenen hochmolekularen Kohlenwasserstoffe nicht zur Löslichkeit des Esters bei. Für die Wachssalbe wird über den Verteilungskoeffizienten zwischen Grundlage und Wasser nur eine Sättigungslöslichkeit von 16 g/100 ml bestimmt. Offensichtlich führen hier die übrigen Vehikelbestandteile (ca. 20% Wachse), zu einer Verminderung der Löslichkeit des Nicotinsäurebenzylesters in der Gesamtgrundlage.

2.3 Verteilungsverhalten zwischen Keratin und flüssigen Salbenbestandteilen

Die Charakterisierung der Verteilung mit Hilfe des Verteilungskoeffizienten entsprechend Gl.17 läßt sich auch für halbfeste und feste organische Phasen wie Salben und Plaste anwenden. Da aber die Verteilung des Nicotinsäurebenzylesters zwischen

Tab. 29 : Sättigungslöslichkeit des Nicotinsäurebenzylesters in flüssigen Salbenbestandteilen (g/100 ml)
Temp.: 20 ± 1°C

H_2O	0,07
Isopropanol/H_2O 39/61 (g/g)	6,18
Propylenglykol/H_2O 14/86 (g/g)	0,21
Paraffin dünnflüssig DAB 8	5,29
Isoparaffin	2,5
Isopropylmyristat	1:1 mischbar
Erdnußöl DAB 8	1:1 mischbar
PEG 400 DAB 8	1:1 mischbar
Ethoxilierter Glycerinfettsäurepartialester	1:1 mischbar
Isopropanol	1:1 mischbar

Keratin und den Salbengrundlagen bzw. Gelen bei 32°C (mittlere Hauttemperatur) nur im Fall der Mikroemulsion experimentell durchführbar ist, werden ansonsten statt der Grundlagen jeweils deren flüssige Bestandteile eingesetzt: Für Vaseline dünnflüssiges Paraffin, für die Hydrogele Polyacrylatgel und Salhumin Gel die entsprechende Isopropanol-Propylenglykol-Wassermischung und für die Polyethylenglykolsalben der flüssige Polyethylenglykolanteil. Außerdem wird die Verteilung zwischen Keratin und Wasser überprüft, um im Fall der O/W-Emulsion (WHS) Aussagen treffen zu können.

In Tab. 30 sind die Werte für den experimentellen Verteilungskoeffizienten zwischen Keratin und den flüssigen Salbenbestandteilen aufgeführt, der Verteilungskoeffizient wird jeweils bei 2 Konzentrationen bestimmt. Das Verteilungsverhalten des Esters ist dabei deutlich von der eingesetzten flüssigen Phase abhängig. So kann im Falle der Mikroemulsion bei einer Ausgangskonzentration von 0,3 bzw. 3% Nicotinsäurebenzylester in der flüssigen Phase nach 20 Stunden keine Abnahme der Esterkonzentration festgestellt werden. Dies gilt auch für die Verteilung zwischen Keratin und Polyethylenglykol 400 bei 3% Ausgangskonzentration. Werden 0,3% Nicotinsäurebenzylester eingesetzt, ergibt sich allerdings ein Verteilungskoeffizient von 0,14. Der Ester zeigt also im Falle der Mikroemulsion und der Polyethylenglykolsalben nur eine geringe Tendenz zur Verteilung ins Keratin.

Anders verhält sich der Ester in flüssigem Paraffin, hier resultieren experimentelle Verteilungskoeffizienten von 6,3 bzw. 1,9 (für 0,3 bzw. 3% Ausgangskonzentration an Nicotinsäure-

Tab. 30: Experimentelle Verteilungskoeffizienten zwischen Keratin und flüssigen Salben bzw. Salbenbestandteilen
Versuchstemperatur 32 ± 1°C
Mittelwerte aus 4 Versuchen

flüssige Salbenphase	Nicotinsäurebenzylesterausgangskonzentration (%; g/ml)	experimenteller Verteilungskoeffizient $VK_{exp.}$
dünnflüssiges Paraffin	0,3	6,29
	3,0	1,85
Isopropanol/ Propylenglykol/H_2O (flüssige Phase des Polyacrylatgels)	0,3	25,65
	3,0	11,46
Mikroemulsion	0,3	0
	3,0	0
Polyethylenglykol 400	0,3	0,14
	3,0	0
H_2O	0,006	150,39
	0,06	107,38

benzylester). Aus der flüssigen Phase des Polyacrylatgels (Isopropanol/Propylenglykol/H_2O) nimmt Keratin wesentlich mehr Ester auf. Die entsprechenden experimentellen Verteilungskoeffizienten liegen bei 25,7 bzw. 11,5. Damit ist für Vaseline ein mittlerer und für die Polyacrylatgele ein hoher Verteilungskoeffizient zu erwarten.

Aus wässriger Lösung ergibt sich die höchste Verteilung in das Keratin. Bei einer Ausgangskonzentration von 0,006 bzw. 0,06% Nicotinsäurebenzylester resultieren experimentelle Verteilungskoeffizienten von 150,4 bzw. 107,4.

Aus der Konzentrationsabhängigkeit der experimentellen Verteilungskoeffizienten läßt sich erkennen, daß in diesem Konzentrationsbereich keine echte Verteilung entsprechend Gl. 17 vorliegt. Vielmehr deutet dieses Verhalten auf eine sättigbare Bindung zwischen Ester und Keratin hin, da sich kein konstantes Verhältnis zwischen gebundenem und freiem Arzneistoff einstellt. Dieses Verhalten des Keratins gegenüber dem Ester läßt erwarten, daß bei der Penetration des Nicotinsäurebenzylesters durch das Stratum corneum sich ebenfalls derartige Sorptionserscheinungen abspielen, die aber an den prinzipiellen Überlegungen nichts ändern (25).

2.4 Beziehung zwischen Löslichkeit und Verteilungsverhalten

In Tab. 31 sind die experimentellen Verteilungskoeffizienten in einer Rangfolge geordnet und den Sättigungslöslichkeiten

des Nicotinsäurebenzylesters in den entsprechenden flüssigen Phasen gegenübergestellt. Dabei zeigt sich, daß dem hohen Verteilungskoeffizienten des Esters zwischen Keratin und Wasser eine geringe Sättigungslöslichkeit des Esters in Wasser entspricht [+]. Ferner ist abzulesen, daß in der Reihe H_2O, Isopropanol-Wassermischung, dünnflüssiges Paraffin, Polyethylenglykol 400 und Mikroemulsion mit abnehmendem Verteilungskoeffizienten des Esters die Löslichkeit in den flüssigen Salbenbestandteilen im großen und ganzen zunimmt. Abweichend scheinen sich lediglich die flüssige Phase des Polyacrylatgels bzw. flüssiges Paraffin zu verhalten. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß sowohl die Sättigungslöslichkeit als auch die Verteilungskoeffizienten nicht allzuweit auseinander liegen (Tab. 31). Darüber hinaus könnte Quellung des Keratins in der Isopropanol-Propylenglykol-Wassermischung zu Veränderungen des Verteilungsverhaltens führen.

Inwieweit die bei den einzelnen Vehikeln gefundenen Sättigungslöslichkeiten und Verteilungskoeffizienten des Esters für die Wirksamkeitsunterschiede verantwortlich zu machen sind, soll die Gegenüberstellung mit anderen Parametern wie Freisetzungsverhalten sowie Spreitung und Abweisungsrate auf der Haut klären (IV).

[+] Auf Grund der unterschiedlichen Ausgangskonzentration an Nicotinsäurebenzylester sind die Keratin/Wasser Verteilungskoeffizienten nur bedingt mit den übrigen Werten vergleichbar.

Tab. 31 : Rangfolge der experimentellen Verteilungskoeffizienten bei 32 ± 1°C
Sättigungslöslichkeiten des Nicotinsäurebenzylesters bei 20 ± 1°C (g/100 ml)

$VK_{exp.}$:	H_2O >	Isopropanol/ Propylenglykol/H_2O >	dünnflüssiges Paraffin >	Polyethylenglykol 400 >	Mikroemulsion
c_s :	0,07	6,18 +)	5,29	1:1 mischbar	

+) Isopropanol/H_2O; Tab. 29

3. Freisetzung des Nicotinsäurebenzylesters in vitro

3.1 Freigabekinetik

Die Abgabe von Arzneistoff aus der Arzneiform in ein Lösungsmittel bzw. an ein Resorptionsorgan stellt den ersten Schritt des Arzneistoffes auf dem Weg zum Wirkort dar (vgl. dazu II.2.1; Abb. 3). In den nachfolgenden Untersuchungen wird das Freigabeverhalten des Nicotinsäurebenzylesters aus den einzelnen Grundlagen ermittelt. Die dabei resultierenden Ergebnisse sollen klären, ob und ggf. in welchem Umfang Unterschiede in der Freisetzung für die nachgewiesenen Wirksamkeitsunterschiede verantwortlich zu machen sind.

Zur Beschreibung der Freigabekinetik aus Lösungssalben ist das von Higuchi (43,44) aus dem 2. Fickschen Gesetz entwickelte Quadratwurzelgesetz ($\sqrt{t}$-Gesetz) für matrixkontrollierte Diffusion geeignet. Im Einzelfall ist jedoch zu überprüfen, ob eingesetzte Membranen zur Trennung von Salbe und Akzeptor bzw. die adhärierende Schicht an der Grenze zwischen Salbe und gerührtem Akzeptor (45a, 60a) einen Einfluß auf die Freisetzung ausüben und demzufolge eine membrankontrollierte Freisetzung vorliegt.

Stellt die Diffusion des in der Salbe gelösten Arzneistoffes den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Freisetzung dar, so läßt sich die in Abhängigkeit von der Zeit freigesetzte Arzneistoffmenge vereinfacht berechnen nach (44):

$$Q = 2 \cdot F \cdot c_o \cdot \sqrt{\frac{D \cdot t}{\pi}} \qquad \text{(Gl. 20)}$$

Q = zur Zeit t freigesetzte Arzneistoffmenge (Mol)

c_o = Anfangskonzentration des Arzneistoffes in der Salbe ($Mol \cdot cm^{-3}$)

F = Diffusionsfläche (cm^2)

D = Diffusionskoeffizient des Arzneistoffes in der Salbe ($cm^2 \cdot s^{-1}$)

Diese Gleichung gilt mindestens bis zu einer Arzneistoffabgabe von 30% sowie unter der Voraussetzung, daß der Diffusionskoeffizient in allen Salbenschichten und zu jeder Zeit konstant ist und nur der Arzneistoff aus der Salbe herausdiffundiert, nicht aber Vehikelbestandteile. Außerdem muß der Arzneistoff auf der

Akzeptorseite schnell abtransportiert werden d.h. es sind "sink"-Bedingungen zu gewährleisten.

Aus Gl. 20 läßt sich der Diffusionskoeffizient berechnen:

$$D = \frac{\left(\frac{Q}{\sqrt{t}}\right)^2 \cdot \pi}{4 \cdot c_o^2 \cdot F^2} \qquad \text{(Gl. 21)}$$

Dabei ist zu berücksichtigen, daß Gl. 20 bzw. 21 nur für einphasige, homogene Systeme gilt. In Gelen bzw. Emulsionen liegen jedoch bikohärent disperse bzw. echte mehrphasige Systeme vor, so daß die ermittelten Diffusionskoeffizienten, im folgenden als effektive Diffusionskoeffizienten [+)] bezeichnet, über die Vorgänge auf molekularer Ebene wenig aussagen. Die effektiven Diffusionskoeffizienten eignen sich jedoch für den Vergleich der Diffusion des Arzneistoffes in unterschiedlichen Salbengrundlagen.

3.2 Untersuchungsbedingungen

Die Untersuchung der Freisetzung erfolgt mit Hilfe der Sartorius-Freigabezelle (8), bestehend aus einem Donatorkompartiment (Salbengefäß) und einem Akzeptorkompartiment mit Umpumpkreislauf. Z.T. wird das Donatorkompartiment auch lediglich in ein Becherglas eingebracht und das Akzeptormedium mittels Rührer

---

[+)] auch als experimenteller, scheinbarer oder übergeordneter Diffusionskoeffizient benannt.

bewegt (Becherglasmethode). Als Akzeptormedium dient 0,1 N HCl; hierin liegt Nicotinsäureester nahezu vollständig protoniert vor, so daß praktisch keine Rückdiffusion zu erwarten ist. In allen Fällen wird die Freisetzung nur solange verfolgt, bis maximal 5% der eingesetzten Arzneistoffmenge freigesetzt sind. Damit bleiben auch dann "sink"-Bedingungen erhalten, wenn der Ester nicht aus dem Gleichgewicht entfernt wird (z.B. im Fall von n-Heptan als Akzeptorflüssigkeit), so daß Gl. 20 auch dabei gültig bleibt.

Der Einsatz geeigneter Membranen zur Trennung von Salbe und Freigabemedium verhindert deren störende Vermischung. Somit kann für hydrophile und lipophile Grundlagen das gleiche Akzeptormedium verwendet werden. Die Membran darf dabei allerdings die Diffusion des Arzneistoffes aus der Grundlage nicht behindern. Zur Überprüfung werden lipophile, unporöse Membranen unterschiedlicher Dicke eingesetzt bzw. Freisetzungsversuche mit und ohne Membran durchgeführt. Einsatz finden Silikon-Membranen mit 0,127 und 0,254 mm Dicke. Sie sind undurchlässig für Bestandteile der verwendeten Grundlagen einschließlich Wasser sowie für Ionen aus dem Akzeptormedium.

Der theoretisch mögliche Einfluß von adhärierenden Flüssigkeitsschichten auf der Akzeptorseite läßt sich durch Variation der Rührgeschwindigkeit (Umpumpgeschwindigkeit) im Akzeptorkompartiment ermitteln bzw. durch Vergleich der Ergebnisse mit Salbenzelle und Becherglasmethode erkennen. Alle Versuche werden bei einer Temperatur von $32^{o}C$ durchgeführt.

3.3 Ergebnisse der Freisetzungsuntersuchungen

Am Beispiel der Freisetzung des Esters aus der Vaseline kann gezeigt werden, daß bei der Auftragung der freigesetzten Mengen in Abhängigkeit von der Wurzel aus der Zeit nach einer bestimmten Verzögerungszeit (Anlaufzeit, lag-time [+]) sich ein quasistationärer Zustand einstellt und Geraden erhalten werden (Abb. 46). Die Bestimmtheitsmaße der Regressionsgeraden liegen zwischen 0,994 und 1,0 (Tab. 32). Die experimentellen Werte zeigen damit gute Übereinstimmung mit der nach Gl. 20 erwarteten Geraden. Aus ihrer Steigung ergibt sich die Freigaberate in Mol/ $\sqrt{t}$. Dabei zeigt sich bei den Versuchen ohne und mit unterschiedlich dicken Silikon-Membranen kein signifikanter Unterschied in den Steigungen. Dies gilt auch für die Ergebnisse mit Salbenzelle und Becherglasmethode, so daß ein Einfluß adhärierender Schichten ausgeschlossen werden kann. Damit stellt die Diffusion in der Vaseline den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Freisetzung dar (Matrixkontrolle). Nach Gl. 21 läßt sich aus der mittleren Freisetzungsrate von $1{,}34 \cdot 10^{-6}$ Mol/ $\sqrt{min}$ für den Nicotinsäurebenzylester in Vaseline der effektive Diffusionskoeffizient von $4{,}8 \cdot 10^{-8}$ $cm^2 \cdot s^{-1}$ berechnen.

Zum Vergleich werden Diffusionsversuche aus wässriger Lösung anstelle der Salbe durchgeführt. Das Donatorkompartiment wird wie bei den Versuchen mit Salben nicht gerührt. Bei einer Aus-

---

[+] Die extrapolierten Verzögerungszeiten nehmen durch Einsatz einer Membran bzw. beim Übergang zu dickeren Membranen erwartungsgemäß zu (Abb. 46).

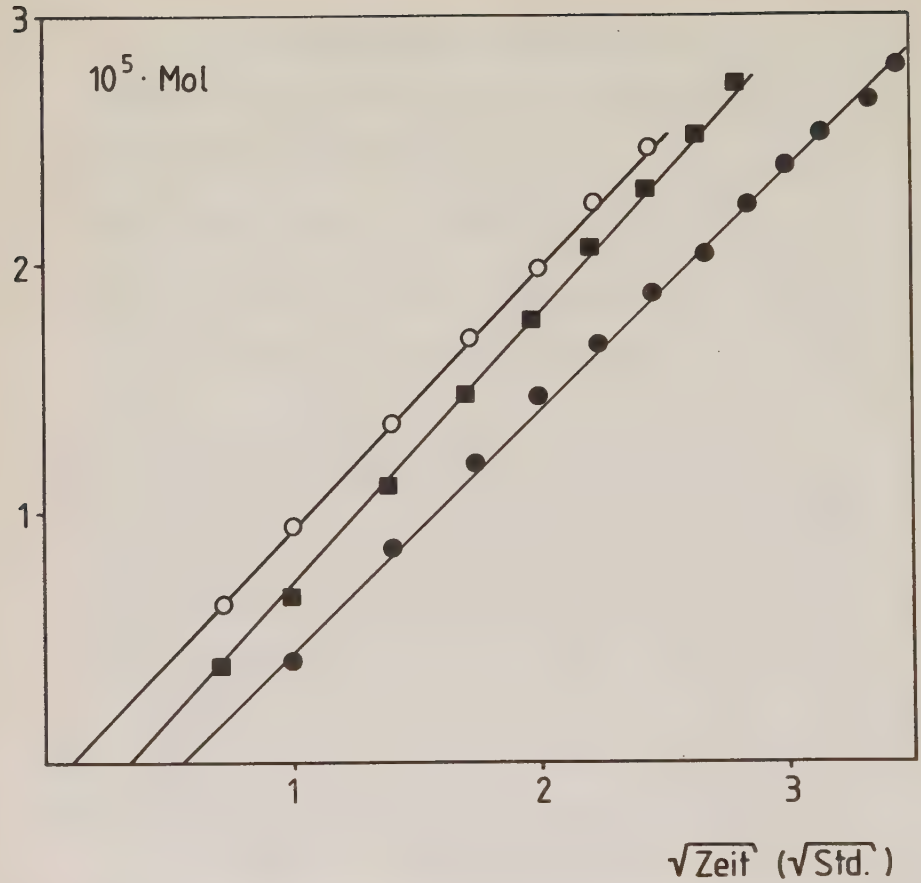


Abb. 46: Freisetzung von Nicotinsäurebenzylester aus Vaseline
Freigesetzte Menge in Abhängigkeit von der Wurzel aus der Zeit (Tab. 32, jeweils 1. Versuch)
c_o = 1% (g/g)
Akzeptormedium 0,1 N HCl
F = 15,9 cm^2
Versuchstemperatur 32 ± 1°C
○ = ohne Membran
■ = Silikon-Membran 0,127 mm dick
● = Silikon-Membran 0,254 mm dick

Tab. 32: Freisetzung von Nicotinsäurebenzylester aus Vaseline
c_o = 1% (g/g)
Akzeptormedium 0,1 N HCl
F = 15,9 cm^2
Versuchstemperatur 32 ± 1°C

Methode	Steigung $Q/\sqrt{t}$ ($10^6 \cdot Mol/\sqrt{min}$)	Bestimmtheitsmaß r^2 (lineare Regression)	lag-time (min)
Freigabezelle			
ohne Membran			
1	1,42	1,000	0,9
2	1,58	0,999	0,6
3	1,17	0,999	3,0
4	1,17	0,999	1,3
Becherglasmethode ohne Membran			
1	1,31	1,000	0,4
Freigabezelle			
Silikon-Membran 0,127 mm			
1	1,54	1,000	16,0
2	1,35	0,999	25,5
3	1,50	0,999	26,3
4	1,07	0,994	26,3
Silikon-Membran 0,254 mm			
1	1,30	0,998	20,2
2	1,34	0,994	57,8

wertung entsprechend Gl. 20 ergeben sich erwartungsgemäß keine Geraden. Trägt man dagegen entsprechend Gl. 22 die Logarithmen der Konzentrationen im Donatorkompartiment in Abhängigkeit von der Zeit auf, so ergibt sich aus der Neigung der Geraden entsprechend dem 1. Fickschen Gesetz die Übertrittsgeschwindigkeitskonstante $k_{I,II}$:

$$\log c_I = \log c_{I_o} - k_{I,II} \cdot t/2{,}3 \qquad \text{(Gl. 22)}$$

$$k_{I,II} = \frac{VK \cdot D \cdot F}{d \cdot V} \qquad \text{(Gl. 23)}$$

c_{I_o} = Anfangskonzentration des Arzneistoffes im Donatorkompartiment

c_I = momentane Konzentration des Arzneistoffes im Donatorkompartiment

VK = Verteilungskoeffizient zwischen Membran und Wasser

D = Diffusionskoeffizient in der Membran

F = aktive Membranfläche (Diffusionsfläche)

d = Dicke der Membran

V = Volumen des Donatorkompartiments

Die $k_{I,II}$ - Werte betragen 0,23 Std.$^{-1}$ für die 0,127 mm dicke und 0,13 Std.$^{-1}$ für die 0,254 mm dicke Membran (Mittelwerte aus 3 Versuchen, siehe exp. Teil II.1.4.3). Die $k_{I,II}$-Werte verhalten sich damit umgekehrt proportional zur eingesetzten Membrandicke. Die Membran ist demnach hier geschwindigkeitsbestimmend, nicht die Diffusion in Wasser bzw. in den adhä-

rierenden Schichten.

Der Verteilungskoeffizient des Nicotinsäurebenzylesters zwischen Silikon-Membran und Wasser liegt bei 65. Damit läßt sich der effektive Diffusionskoeffizient des Esters in der Membran aus Gl. 23 errechnen. Er liegt etwa bei $2 \cdot 10^{-7}$ $cm^2 \cdot s^{-1}$ und ist damit wesentlich höher als in anderen Membranen. Dabei ist zu berücksichtigen, daß in der Membran ca. 35% Füllstoffe (kolloidale Kieselsäure) enthalten sind (24). Vergleichbare Werte: Polymethacrylatmembranen $1{,}2 \cdot 10^{-10} cm^2 \cdot s^{-1}$ (61). Der effektive Diffusionskoeffizient des Esters in der Vaseline ist demnach etwa eine Zehnerpotenz kleiner als in der Membran. Man kann daher davon ausgehen, daß für solche Grundlagen, bei denen sich eine ähnliche bzw. geringere Steigung der $Q/\sqrt{t}$-Geraden (damit auch ein kleinerer effektiver Diffusionskoeffizient) ergibt, der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ebenfalls in der Salbengrundlage liegt. Dies gilt für Wachssalbe, hydrophile Salbe, wasserhaltige hydrophile Salbe, Polyethylenglykolsalbe und wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe (Tab. 33 und 34). Für diese Grundlagen wird die Freigabe lediglich mit der Silikon-Membran von 0,127 mm Dicke untersucht. Die dabei errechneten effektiven Diffusionskoeffizienten (Mittelwerte aus 2-3 Versuchen) liegen zwischen $1{,}08 \cdot 10^{-7}$ in hydrophiler Salbe und $1{,}96 \cdot 10^{-8}$ $cm^2 \cdot s^{-1}$ in der Polyethylenglykolsalbe (Tab. 39). Im Falle von Wollwachsalkoholsalbe, wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, Mikroemulsion und Polysynlansalbe zeigen sich stärkere Anstiege der $Q/\sqrt{t}$-Geraden, damit auch höhere Diffusionskoeffizienten des Esters: $2{,}03 \cdot 10^{-7}$ in Mikroemulsion und $1{,}01 \cdot 10^{-6}$ $cm^2 \cdot s^{-1}$ in Polysynlansalbe. Hier wird der

Membraneinfluß im Einzelfall überprüft, und zwar durch verschieden dicke Membranen bei Mikroemulsion und durch Versuche mit und ohne Membran bei Polysynlansalbe, Wollwachsalkoholsalbe und wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe (Tab. 35, 36, 37). Dabei zeigt sich, daß die eingesetzten Membranen die Diffusion des Esters aus diesen Grundlagen ebenfalls nicht behindern [+].

Bei Polyacrylatgel zeigt die Membran allerdings einen Einfluß auf die Freigabegeschwindigkeit (Tab. 38). Als Akzeptormedium für die Versuche ohne Membran wird hier n-Heptan eingesetzt. n-Heptan hat ein gutes Lösungsvermögen für den Ester und ist mit Polyacrylatgel nicht mischbar. Dabei ergibt sich ohne Membran eine deutlich höhere Freigabegeschwindigkeit mit einem effektiven Diffusionskoeffizienten von $1{,}71 \cdot 10^{-5}\ cm^2 \cdot s^{-1}$. Das entspricht größenordnungsmäßig dem für Wasser zu erwartenden Diffusionskoeffizienten des Nicotinsäurebenzylesters. Für Pyridin wird in Wasser bei 25°C ein Diffusionskoeffizient von $1{,}14 \cdot 10^{-5}\ cm^2 \cdot s^{-1}$ gemessen (25).

[+] Die langsamere Freisetzungsgeschwindigkeit für Wollwachsalkoholsalbe ohne Membran dürfte durch die zeitliche Abfolge der Versuche bedingt sein (63). Zwischen den Versuchen mit und ohne Membran liegen hier 4 Wochen während die übrigen Versuche direkt hintereinander bzw. innerhalb von 2 Wochen durchgeführt werden.

Tab. 33: Freisetzung von Nicotinsäurebenzylester aus Wachssalbe (KS), hydrophiler Salbe (HS) und wasserhaltiger hydrophiler Salbe (WHS)
c_o = 1% (g/g)
Akzeptormedium 0,1 N HCl
F = 15,9 cm^2
Versuchstemperatur 32 ± 1°C

Methode und Grundlagen	Steigung $Q/\sqrt{t}$ ($10^6 \cdot Mol/\sqrt{min}$)	Bestimmtheitsmaß r^2 (lineare Regression)	lag-time (min)
Freigabezelle			
Silikon-Membran 0,127 mm			
Wachssalbe			
1	1,64	0,995	15,0
2	1,96	0,999	14,5
hydrophile Salbe			
1	2,08	0,992	13,0
2	1,94	1,000	11,0
3	2,01	0,999	11,0
wasserhaltige hydrophile Salbe			
1	0,86	0,996	17,0
2	0,71	0,999	9,0

Tab. 34 : Freisetzung von Nicotinsäurebenzylester aus Polyethylenglykolsalbe (PEG) und wasserhaltiger Polyethylenglykolsalbe (PEGW)
c_o = 1% (g/g)
Akzeptormedium 0,1 N HCl
F = 15,9 cm^2
Versuchstemperatur 32 ± 1°C

Methode und Grundlage	Steigung $Q/\sqrt{t}$ ($10^6 \cdot Mol/\sqrt{min}$)	Bestimmtheitsmaß r^2 (lineare Regression)	lag-time (min)
Freigabezelle			
Silikon-Membran 0,127 mm			
Polyethylenglykolsalbe			
1	0,99	1,000	18,0
2	1,07	0,999	24,0
3	1,01	0,998	18,0
wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe			
1	1,19	0,993	27,0
2	1,10	1,000	19,0

Tab. 35 : Freisetzung von Nicotinsäurebenzylester aus Mikroemulsion (ME)
c_o = 1% (g/g)
Akzeptormedium 0,1 N HCl
F = 15,9 cm^2
Versuchstemperatur 32 $\pm$ 1°C

Methode	Steigung $Q/\sqrt{t}$ ($10^6 \cdot Mol/\sqrt{min}$)	Bestimmtheitsmaß r^2 (lineare Regression)	lag-time (min)
Freigabezelle			
Silikon-Membran 0,127 mm			
1	2,58	0,992	10,5
2	2,79	0,991	9,5
3	2,82	0,999	15,0
4	3,18	1,000	13,0
Silikon-Membran 0,254 mm			
1	2,76	0,999	28,5
2	2,88	0,999	30,0

Tab. 36 : Freisetzung von Nicotinsäurebenzylester aus Polysynlansalbe (PS)
c_o = 1% (g/g)
Akzeptormedium 0,1 N HCl
F = 15,9 cm^2
Versuchstemperatur 32 ± 1°C

Methode	Steigung $Q/\sqrt{t}$ ($10^6 \cdot Mol/\sqrt{min}$)	Bestimmtheitsmaß r^2 (lineare Regression)	lag-time (min)
Becherglasmethode ohne Membran			
1	5,00	0,993	0,1
2	6,03	1,000	0,1
3	5,40	0,999	0
Freigabezelle Silikon-Membran 0,127 mm			
1	4,26	0,986	9,5
2	6,01	0,999	7,5

Tab. 37: Freisetzung von Nicotinsäurebenzylester aus Wollwachsalkoholsalbe (ALK) und wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe (WALK)
c_o = 1% (g/g)
Akzeptormedium 0,1 N HCl
F = 15,9 cm^2
Versuchstemperatur 32 ± 1°C

Methode und Grundlage	Steigung $Q/\sqrt{t}$ (10^6-Mol/$\sqrt{min}$)	Bestimmtheitsmaß r^2 (lineare Regression)	lag-time (min)
Wollwachsalkoholsalbe			
Becherglasmethode ohne Membran			
1	1,81	0,999	0
2	1,88	1,000	0
Freigabezelle Silikon-Membran 0,127 mm			
1	2,37	0,985	9,0
2	2,32	1,000	14,5
Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe			
Becherglasmethode ohne Membran			
1	2,68	1,000	0
2	2,91	0,999	0
3	2,59	0,999	0
4	2,47	0,945	2,0
Freigabezelle Silikon-Membran 0,127 mm			
1	2,64	0,999	13,0
2	2,53	0,983	11,0

Tab. 38: Freisetzung von Nicotinsäurebenzylester aus Polyacrylatgel (PA)
c_o = 1% (g/g)
Akzeptormedium 0,1 N HCl bzw. n-Heptan
F = 15,9 cm^2
Versuchstemperatur 32 ± 1°C

Methode und Akzeptormedium	Steigung $Q/\sqrt{t}$ ($10^6 \cdot Mol/\sqrt{min}$)	Bestimmtheitsmaß r^2 (lineare Regression)	lag-time (min)
Becherglasmethode ohne Membran Akzeptormedium n-Heptan			
1	25,81	0,999	2,5
2	25,15	0,990	2,0
3	23,19	0,983	1,0
Freigabezelle Akzeptormedium 0,1 N HCl Silikon-Membran 0,127 mm			
1	3,90	0,983	26,5
2	4,49	0,986	26,5
Silikon-Membran 0,254 mm			
1	2,70	0,986	32,5
2	3,30	0,983	30,0

3.4 Diskussion des Freisetzungsverhaltens

Die untersuchten Salben unterscheiden sich deutlich in ihrer Freisetzungsgeschwindigkeit (Tab. 39). Die ermittelten effektiven Diffusionskoeffizienten des Esters liegen zwischen etwa $2 \cdot 10^{-5}$ $cm^2 \cdot s^{-1}$ für Polyacrylatgel und etwa $2 \cdot 10^{-8}$ $cm^2 \cdot s^{-1}$ für Polyethylenglykolsalbe. Die Grundlagen lassen sich in 3 Gruppen einteilen: Extrem schnelle Freigabe bzw. einen sehr hohen effektiven Diffusionskoeffizienten zeigt Polyacrylatgel. Immer noch rasch, aber gegenüber Polyacrylatgel deutlich verzögert ist die Freigabe aus Polysynlansalbe. Alle übrigen Grundlagen ergeben trotz unterschiedlicher Zusammensetzung und verschiedenem inneren Aufbau deutlich niedrigere Freisetzungsgeschwindigkeiten von ähnlicher Größenordnung. Zu dieser Gruppe gehören: Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, die Absorptionsgrundlagen hydrophile Salbe und Wollwachsalkoholsalbe, Polyethylenglykolsalbe und wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe. Werden die Grundlagen nach der Freisetzungsgeschwindigkeit des Nicotinsäurebenzylesters geordnet, ergibt sich folgende Rangfolge (Tab. 39):

PA >> PS >> ME > WALK > HS > KS > ALK > VAS > PEGW > PEG > WHS

Diese Befunde sollten sich wenigstens qualitativ mit dem inneren Aufbau der Salben (29,46,47) deuten lassen. Eine Gegenüberstellung der Diffusionskoeffizienten und der Quasiviskositäten, also ein Vergleich mit "makroskopischen", äußeren Eigenschaften,

Tab. 39 : Steigung der Geraden ($Q/\sqrt{t}$) und effektive Diffusionskoeffizienten von Nicotinsäurebenzylester bei der Freisetzung aus verschiedenen Salbengrundlagen

Salbengrundlage	Steigung $Q/\sqrt{t}$ $(10^6 \cdot Mol/\sqrt{min})$ [+)]	$D_{eff.}$ $(cm^2 \cdot s^{-1})$ [+)]
VAS	1,34	$4{,}80 \cdot 10^{-8}$
PS	5,34	$1{,}01 \cdot 10^{-6}$
KS	1,80	$9{,}25 \cdot 10^{-8}$
ALK	1,85	$9{,}16 \cdot 10^{-8}$
HS	2,01	$1{,}08 \cdot 10^{-7}$
WALK	2,64 [++)]	$1{,}75 \cdot 10^{-7}$ [++)]
WHS	0,79	$1{,}54 \cdot 10^{-8}$
ME	2,84	$2{,}03 \cdot 10^{-7}$
PA	24,72 [++)]	$1{,}71 \cdot 10^{-5}$ [++)]
PEG	1,02	$1{,}96 \cdot 10^{-8}$
PEGW	1,15	$2{,}63 \cdot 10^{-8}$

[+)] Mittelwert aus allen Versuchen ohne Berücksichtigung der Methode

[++)] Mittelwert aus den Versuchen ohne Membran

ergibt daher erwartungsgemäß keine Erklärung für das unterschiedliche Diffusionsverhalten des Nicotinsäurebenzylesters in den einzelnen Grundlagen. So wird aus Tab. 40 z.B. deutlich, daß die Quasiviskosität von Polyacrylatgel keineswegs besonders niedrig ist. Dies trifft eher für Polysynlansalbe zu. Andererseits weisen Systeme wie Vaseline, Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe zwar hohe Quasiviskositäten auf, der effektive Diffusionskoeffizient des Nicotinsäurebenzylesters in diesen Grundlagen ist aber trotzdem nicht besonders erniedrigt (Tab. 39).

Eher läßt sich das Diffusionsverhalten in den Salben unter Berücksichtigung der Viskositäten der flüssigen Anteile in den Grundlagen erklären: Die flüssigen Bestandteile in Polyacrylatgel und Polysynlansalbe weisen mit 9 bzw. 20,5 mPa·s sehr niedrige Viskositäten auf. Es resultieren hohe Diffusionskoeffizienten (Tab. 39).

Die flüssigen Bestandteile der meisten übrigen Grundlagen sind wesentliche viskoser (ca. 50 - 85 mPa·s), so daß sich niedrige Diffusionskoeffizienten ergeben. Ausnahme scheinen Mikroemulsion und wasserhaltige hydrophile Salbe darzustellen, die bei niedrigen Viskositäten der flüssigen Bestandteile (14 bzw. 0,8 mPa·s) ebenfalls niedrige Diffusionskoeffizienten besitzen. Hierbei ist jedoch zu bedenken, daß in Mikroemulsion mit besonderen mizellaren Strukturen (27) auch bei ähnlicher Viskosität der flüssigen Phase ein erhöhter Diffusionswiderstand bestehen dürfte. Darüber hinaus ist eine Einlagerung des Esters in mizellare Bereiche anzunehmen (58). Bei wasserhaltiger hydrophiler

Salbe, bei der z.T. flüssig-kristalline Strukturen vorliegen (22,28,29,54), muß davon ausgegangen werden, daß die Hauptmenge des Nicotinsäurebenzylesters sich in der dispersen, lipophilen Phase befindet und damit entsprechend dem Verteilungskoeffizienten nur ein geringer Anteil der Gesamtmenge an Ester für die Freisetzung zur Verfügung steht.

Dies allein erklärt allerdings noch nicht die niedrigen, effektiven Diffusionskoeffizienten von Nicotinsäurebenzylester in Polyacrylatgel und Polysynlansalbe. Es muß zusätzlich in Betracht gezogen werden, daß die Anteile an Gelbildner (Gerüstbildner) in diesen beiden Grundlagen besonders niedrig sind (2,5 bzw. 5%) und es damit zu keiner nennenswerten Behinderung der Diffusion kommt.

Weitere spezielle Eigenschaften wie Solvatation des Nicotinsäurebenzylesters, Molvolumen der flüssigen Phase, spezifischer Aufbau des Gelgerüstes, unspezifische Wechselwirkungen zwischen Bestandteilen der Grundlagen und Nicotinsäurebenzylester u.a.m. können darüber hinaus zu einer weiteren Differenzierung der Diffusionskoeffizienten beitragen.

Die aufgefundenen Unterschiede in den Freisetzungsgeschwindigkeiten der Salben sind bei der Diskussion den in vivo gefundenen Wirksamkeitsunterschieden (II.6) neben anderen Gesichtspunkten wie Verteilungskoeffizient Keratin/Salbengrundlage, Sättigungslöslichkeit des Nicotinsäurebenzylesters und Verhalten der Zubereitungen auf der Haut gegenüberzustellen und hinsichtlich ihrer Bedeutung abzuwägen.

Tab. 40: Rheologisches Verhalten der Salben und deren flüssiger Bestandteile
Temp. : 32 ± 1°C
Haake-Rotationsviskosimeter RV 2, Schergefälle D:
5013,2 s^{-1} (n = 256) bzw. 10026,4 s^{-1} (n = 512)
Mittelwerte aus 3 Versuchen

Salbengrundlage		dazugehörige flüssige Phase		% flüssige Phase
Quasiviskosität η_a (mPa·s)			Viskosität η (mPa·s)	(g/g)
VAS	396,0 n = 256 306,4 n = 512	dickflüssiges Paraffin	85,4	75
PS	109,2 n = 256 - +)n = 512	Isoparaffin	20,5	95
KS	112,3 n = 256 84,1 n = 512	Erdnußöl	50,2	81
HS	196,4 n = 256 134,1 n = 512	dickflüssiges Paraffin	85,4	61
ALK	116,1 n = 256 97,2 n = 512	dickflüssiges Paraffin	85,4	71
WALK	Gleitfließen, Messung nicht durchführbar	dickflüssiges Paraffin	85,4	38 ++)
WHS	Gleitfließen	H_2O	0,8 +++)	70 ++)
ME	510,9 n = 256 275,4 n = 512	ethoxil. Cetylstearylalkohol/ Isopropylmyristat/H_2O	14,9	88
PA	354,0 n = 256 308,7 n = 512	Isopropanol/ Propylenglykol/ H_2O	9,0	98
PEG	556,1 n = 256 345,3 n = 512	Polyethylenglykol 400	58,9	48
PEGW	Gleitfließen	Polyethylenglykol 400	58,9	53

+) Mit dem eingesetzten Meßsystem nicht meßbar
++) Bezogen auf das angegebene flüssige Dispersionsmittel
+++) Literaturwert (11)

IV. Zusammenhänge zwischen unterschiedlicher Wirksamkeit nicotinsäurebenzylesterhaltiger Lösungssalben und ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften (In-vitro-/ In-vivo-Korrelation)

Die entscheidende Prüfgröße für die biopharmazeutische Qualität einer Zubereitung ist deren Wirksamkeit (74,87). Diese kann, wie die vorliegenden Untersuchungen im Fall von Lösungssalben zeigen (II.), durch Art und Zusammensetzung der Grundlagen wesentlich beeinflußt werden. Die in vivo gefundenen statistisch abgesicherten Wirksamkeitsunterschiede erlauben aber noch keine Aussagen darüber, warum derartige Unterschiede auftreten. Für die gezielte Entwicklung von sicheren und wirksamen medikamentösen Salben sind solche Aussagen aber notwendige Voraussetzung.

Nach Aufteilung und getrennter Untersuchung der Vorgänge bei der Arzneistoffaufnahme (II.2) sollte es aber möglich sein, dafür wesentliche Einzelschritte und Parameter zu erkennen (3). In erster Linie kommen für die Beeinflußung der Wirksamkeit das Freisetzungs- und Verteilungsverhalten sowie die Löslichkeit des Wirkstoffes Nicotinsäurebenzylester in Abhängigkeit von den Grundlagen in Frage. Außerdem sind Wechselwirkungen zwischen Grundlage, Arzneistoff und Haut als zusätzliche Einflußfaktoren in Betracht zu ziehen. Die genannten Parameter werden im folgenden den Wirksamkeitsbefunden gegenüber gestellt und ihre diesbezügliche Bedeutung diskutiert.

Die Wirksamkeitsunterschiede der Salben sind unter Berücksichtigung aller Meßparameter und Testreihen in II.6 aufgeführt. Es werden dabei drei Gruppen, und zwar stark, mittel und schwach wirksame Salben unterschieden. Starke Wirksamkeit ergibt sich mit den Hydrogelen wie Polyacrylatgel, schwach wirksam sind Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalben. Anwendung von lipophilen Gelen (typischer Vertreter Vaseline), von Emulsionen und von Absorptionsgrundlagen ergibt eine mittlere Wirksamkeit. Größenordnungsmäßig resultieren dabei relative dauerbezogene Bioverfügbarkeitsfaktoren von etwa 10 für das stark wirksame Polyacrylatgel und von 0,1 für die schwach wirksamen Zubereitungen Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe, bezogen auf Vaseline als Standard = 1 (gemessen über den reziproken Wert der Latenzzeit bzw. die Dauer der Rötung). Die entsprechenden relativen intensitätsbezogenen Bioverfügbarkeitsfaktoren, die der Penetrationsgeschwindigkeitskonstanten direkt proportional sind, liegen bei 5 bzw. 0,2 für stark bzw. schwach wirksame Grundlagen (abgeleitet aus der maximalen Temperaturerhöhung).

Das unterschiedliche Freisetzungsverhalten der einzelnen Salben entspricht im allgemeinen nicht der Gruppierung bei den Wirksamkeitsunterschieden. Allenfalls läßt sich eine Übereinstimmung von Wirksamkeit und Freigabeverhalten bei Polyacrylatgel erkennen: Extrem schnelle Freigabe entspricht hier starker Wirksamkeit. Dabei sind allerdings die Wirksamkeitsunterschiede z.B. im Vergleich zur Vaseline weit weniger ausgeprägt als die entsprechenden Unterschiede in der Freisetzungsgeschwin-

digkeit. Salben mit mittlerer Wirksamkeit (Polysynlansalbe, Vaseline, Wollwachsalkoholsalbe, hydrophile Salbe, wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und wasserhaltige hydrophile Salbe) zeigen dagegen sowohl relativ hohe Freigabegeschwindigkeiten (Polysynlansalbe) als auch durchschnittliche Freigaberaten (alle übrigen). Die beiden am schlechtesten wirksamen Salben, Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe, geben den Wirkstoff mit vergleichbarer Geschwindigkeit ab, wie die Mehrzahl der Salben mit mittlerer Wirksamkeit. Damit wird offensichtlich, daß bei den vorliegenden Untersuchungen zwischen Freisetzungsgeschwindigkeit und Wirksamkeit kein direkter Zusammenhang besteht. Das bedeutet gleichzeitig, daß bei allen Salben die Freisetzung so schnell ist, daß die anschliessende Penetration durch das Stratum corneum nicht behindert wird [+].

Vergleichende Freisetzungsuntersuchungen können allerdings auch Aufschluß über spezifische Bindungen des Arzneistoffes an Salbenbestandteile bzw. über den frei diffundierbaren Anteil geben. Ebenso ist bei Vorliegen eines Dissoziationsgleichgewichtes z.B. in Hydrogelen nur der undissoziierte Anteil in der Lage, lipophile Trennmembranen zu überwinden. Diese Verringerung des zur Penetration verfügbaren Anteiles - sofern in vitro nachge-

---

[+] Bei fehlender Diffusionsbarriere z.B. bei verletzter Haut bzw. im Fall von Schleimhaut könnte die Freisetzung aus den Salben zum geschwindigkeitsbestimmenden Schritt werden, so daß dann ein solcher Zusammenhang zwischen Wirksamkeit und Freigabegeschwindigkeit zu erwarten wäre.

wiesen - sollte sich in vivo auswirken.

In den vorliegenden Untersuchungen ergibt sich für Polyacrylatgel mit seinem pH von 3,5, bei dem entsprechend dem pKs des Nicotinsäurebenzylesters von 4,5 nur 10% davon undissoziiert vorliegen, kaum eine Wirkungsminderung gegenüber den übrigen Grundlagen. Dies könnte vor allem auf das besondere Verhalten dieser Grundlage auf der Haut zurückzuführen sein (18). Darüber hinaus dürfte die Pufferwirkung der Hautoberfläche eine Rolle spielen (89, 91). Für das vergleichbare Hydrogel Salhumin Gel mit einem pH von etwa 3 (3% undissoziiert) deutet sich zumindest in den Konzentrationsreihen und im 2-Punkt-Test die erwartete niedrigere Wirksamkeit im Vergleich zu Polyacrylatgel an.

Der Vergleich der gefundenen Wirksamkeiten der Salben mit den experimentellen Verteilungskoeffizienten zwischen Keratin und flüssigen Salbenbestandteilen zeigt weitgehende Übereinstimmung: Bei hohem Verteilungskoeffizienten (z.B. Hydrogele) resultieren starke Wirkungen, bei kleinen Verteilungskoeffizienten ergeben sich nur geringe Effekte (Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe). Für Salben von mittlerer Wirksamkeit wie z.B. Vaseline resultiert dementsprechend ein mittlerer Verteilungskoeffizient. Die Verteilungskoeffizienten verhalten sich dabei umgekehrt proportional zu den Sättigungslöslichkeiten in den Vehikeln. Dementsprechend besteht auch eine umgekehrte Proportionalität zwischen Sättigungslöslichkeit und Wirksamkeit. So werden für Grundlagen wie Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe in denen der Ester sehr gut löslich ist (1:1 mischbar) nur geringe Wirksamkeiten gemessen. Wachssalbe, in der der Ester ebenfalls noch gut lös-

lich ist, wirkt schwächer als Vaseline, in der er nur zu 3% gelöst wird. Mit abnehmender Löslichkeit nimmt damit die Wirksamkeit weiter zu. Dies gilt auch für Polyacrylatgel, wenn die Löslichkeit des Esters in der nach Verdunsten des Isopropanolanteils auf der Haut verbleibenden Propylenglykol-Wassermischung zum Vergleich herangezogen wird. Hierin ist der Ester deutlich schlechter löslich als in Vaseline und damit besser wirksam. Die Löslichkeit des Esters im Gesamtgel ist dagegen gut. Durch Abdunsten flüchtiger Anteile aus dem Gel steigt allerdings auch die Konzentration des Esters. Vergleiche hinsichtlich Konzentration und Wirkung werden daher bei derartigen Grundlagen problematisch. Insgesamt aber weist der enge Zusammenhang zwischen Keratin/Vehikel-Verteilungskoeffizient bzw. reziprokem Wert der Sättigungskonzentrationen und den In-vivo-Befunden darauf hin, daß bei Lösungssalben damit der wichtigste, wenn auch nicht der einzige Parameter, der die Wirksamkeit bestimmt, festgelegt ist. Daraus ergeben sich wichtige Konsequenzen für die Entwicklung entsprechender Formulierungen (siehe letzter Absatz).
Darüber hinaus können vehikelspezifische Eigenwirkungen und Eigenschaften die Wirksamkeit der Salben beeinflussen. So sind wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe und wasserhaltige hydrophile Salbe im Gegensatz zu den entsprechenden wasserfreien Absorptionsgrundlagen offensichtlich befähigt, das Stratum corneum direkt zu hydratisieren (79,81); daraus ergibt sich eine deutlich bessere Wirksamkeit dieser Zubereitungen (1-Punkt-Test; $1/t_R$ und D_R).

Inwieweit umgekehrt die hygroskopische Eigenschaft der Polyethylenglykolsalbe, die eher zur Austrocknung des Stratum cor-

neum führt (102), zur schlechten Wirksamkeit dieser Zubereitung beiträgt, läßt sich schwer abschätzen. Es ist aber beachtenswert, daß die Effektivität dieser Salbe auch durch Einarbeiten von 10% Wasser nicht nachhaltig verbessert werden kann.

Auch eine mögliche indirekte Hydratation durch Okklusivwirkung der Grundlagen (49) läßt sich über die Wirksamkeitsunterschiede nicht erkennen. Unter einem Okklusivverband (II.5.2) dagegen zeigen sich Unterschiede: Sonst schwach wirksame Zubereitungen sind als Folge zunehmender Hydratation des Stratum corneum effektiver (wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe und besonders Mikroemulsion).

Bezüglich des Tensidgehaltes erweisen sich wasserfreie Absorptionsgrundlagen wie hydrophile Salbe und Wollwachsalkoholsalbe keineswegs effektiver als entsprechende lipophile Gele wie Vaseline und Polysynlansalbe.
Grundlagen, die gut in das Stratum corneum eindringen und ein gutes Lösungsvermögen für den Ester besitzen, könnten über die Veränderung der Zusammensetzung der Barriere (Erhöhung der Sättigungslöslichkeit des Arzneistoffs in der Barriere) zu einer verbesserten Wirksamkeit beitragen. Dies dürfte im Fall der Wachssalbe (geringe Abweisungsrate) zu deren verbesserter Wirksamkeit gegenüber Polyethylenglykolsalbe beitragen.

Die fehlende Spreitung des Polyacrylatgels auf der Haut (III.1.1) führt bei den entsprechenden Zubereitungen (Polyacrylatgel und Salhumin Gel) zu einer verminderten Flächenausbreitung des

Erythemes und gleichzeitig zu einer längeren Rötungsdauer. Insgesamt aber ist zwischen Spreitung sowie Abweisungsrate der Grundlagen und den gemessenen Wirksamkeiten kein genereller Zusammenhang erkennbar. Diese sind daher im Einzelfall als zusätzliche Einflußfaktoren zu berücksichtigen.

Aus den aufgezeigten Zusammenhängen zwischen Wirksamkeit und physikalisch-chemischen Eigenschaften ergeben sich wichtige Aspekte für die Entwicklung von Lösungssalben unter biopharmazeutischen Gesichtspunkten. So läßt sich durch Änderung der Zusammensetzung eines Vehikels bestimmen, ob ein gelöster Wirkstoff schnell oder langsam in die Haut eindringt: Die Penetrationsgeschwindigkeit wird immer dann groß sein, wenn die Affinität des Wirkstoffes zum Vehikel niedrig ist. Diese läßt sich mit Hilfe einfacher Untersuchungen (Bestimmung des Verteilungskoeffizienten Keratin/Vehikel, bzw. der Sättigungslöslichkeit des Arzneistoffes im Vehikel) charakterisieren. Umgekehrt können Substanzen, deren Übergang in die Haut unerwünscht ist (Sonnenschutzmittel, Desinfektionsmittel) daran weitgehend gehindert werden. Dazu lassen sich nicht nur Vehikel mit besonders großem Lösungsvermögen für den Wirkstoff einsetzen, sondern darüber hinaus solche Salbengrundlagen heranziehen, in denen der Wirkstoff in nicht zur Penetration verfügbarer Form vorliegt. Derartige Maßnahmen sind über Freisetzungsuntersuchungen gut zu kontrollieren. Allerdings sind Voraussagen, die auf derartigen In-vitro-Befunden basieren, nur auf Vehikel mit jeweils demselben Arzneistoff anwendbar, besitzen also relativen Charakter.

C EXPERIMENTELLER TEIL

I. Wirksamkeitsuntersuchungen

1. Versuchsbedingungen und Auswertung

1.1 Probanden

Von den 146 hautgesunden Probanden [+)] (81 männlich und 55 weiblich) im Alter von 22 - 39 Jahren zeigen 23 eine ausgesprochene trockene Haut und 2 Probanden dagegen einen seborrhoischen Hauttyp an der Applikationsstelle (Unterarminnenseite).

1.2 Meßvorgang

Die Messungen erfolgen in einem klimatisierten Raum, Luftfeuchtigkeit 55 $\pm$ 5%, Raumtemperatur 21 $\pm$ 2°C. Nach einer Eintemperierungszeit der Probanden von einer Stunde werden an der rechten und linken Unterarminnenseite je 3 Meßstellen in gefäßarmen Bereichen ausgewählt, die einander gegenüber liegen; als Vergleich - Behandlung mit nicotinsäureesterfreier Grundlage - dient jeweils die entsprechende Stelle am anderen Arm. Für jede Konzentration werden bis zu 4 Messungen in einem einfachen Blindversuch durchgeführt. Abweichend davon werden die Messungen für die 1-Punkt-Tests über die Parameter t_R und D_R bei Raumtemperatur aufgenommen, ebenso die Konzentrationsreihen, die nur mit diesen Parametern gemessen werden. Die Zuteilung der einzelnen Salben zu den Probanden und Meßstellen erfolgt durch Randomisierung.

[+)] Der Fa. Bastian München danke ich für die Hilfe bei der Gewinnung der Probanden.

Je 10 ± 1 mg der nicotinsäurebenzylesterhaltigen Salben werden auf einen kreisförmigen, markierten Fleck von 3 cm Durchmesser mit Hilfe eines Applikators (zylindrisches Kolbendosiergerät, Abb. 47) aufgetragen. Damit werden die Salben auf das Areal verteilt und 15 Sekunden eingerieben.

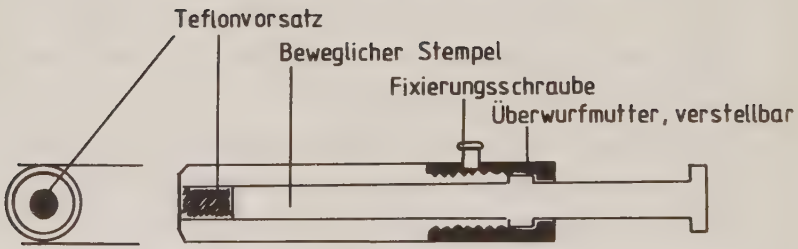


Abb. 47: Zylindrisches Kolbendosiergerät (Maßstab 1,5:1)

1.2.1 Parameter der Hautrötung

Die Hautrötung entsteht durch eine vermehrte Blutfülle in den Kapillaren. Das Remissionsspektrum der Haut zeigt deutliche Absorptionsmaxima im Bereich zwischen 542 und 567 nm, die auf Hämoglobin zurückzuführen sind (13,42,90). Veränderungen der Rötungsintensität sollten also besonders in diesem Bereich zu erwarten sein. Abb. 48 zeigt ein Remissionsspektrum der Haut vor und nach Applikation von 1% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline. Die Remissionswerte werden im Bereich von 460 - 600 nm durch das entstehende Erythem deutlich erniedrigt. Die Registrierung des Gesamtspektrums ist allerdings mit erheblichem Versuchsaufwand verbunden und daher für Reihenversuche wenig geeignet.

Remissionsmessungen [+)] mit einem einfachen Remissionsphotometer nach Dirnagel (73) und einem Interferenzfilter von entsprechender spektraler Durchlässigkeit (VG 9 Schott & Gen., Mainz) für 1 bzw. 4% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline sind in Abb. 49 und 50 dargestellt.

Meßvorgang

Das Remissionsphotometer wird zunächst auf 0 bzw. 100% Remission geeicht (schwarzer bzw. weißer Zeichenkarton). Danach erfolgt die Bestimmung der Ausgangswerte der Remission an der Meßstelle sowie an der Vergleichsstelle (Unterarminnenseite; Mittelwerte aus

---

[+)] Herrn Dr. Kleinschmidt und Herrn Dr. Pratzel vom Institut für Medizinische Balneologie und Klimatologie der Universität München danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Messungen.

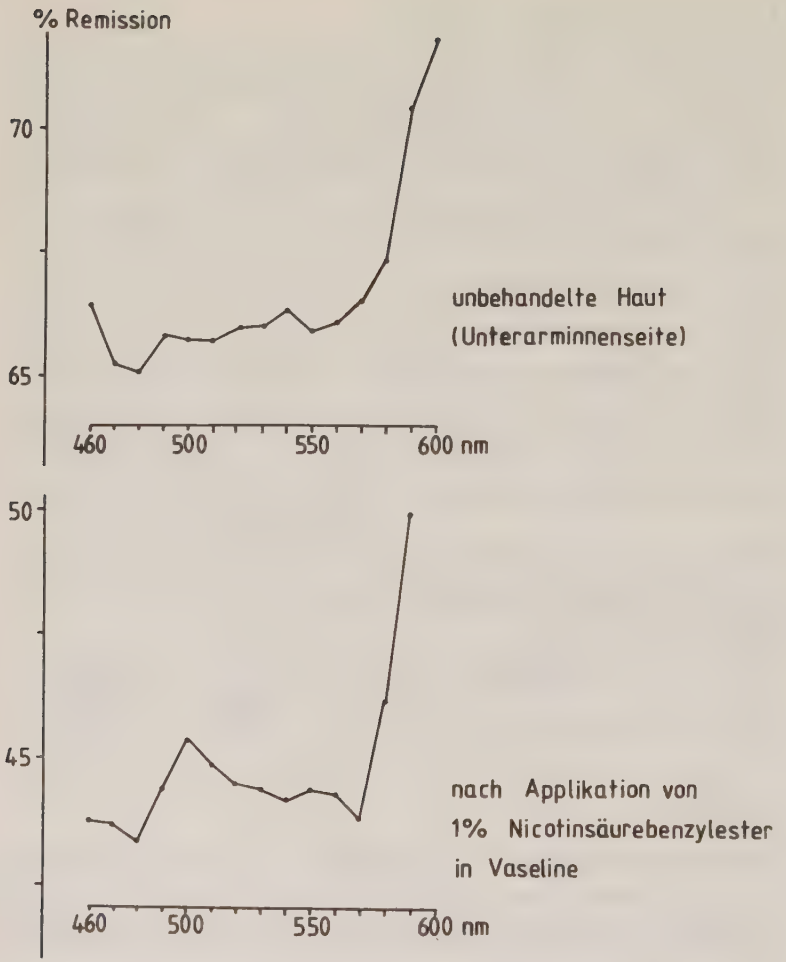


Abb. 48: Remissionsspektrum der Haut vor und nach Applikation von Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (1%)
Aufgenommen mit einem Hautspektralphotometer (72)
(MgO = 100% Remission)

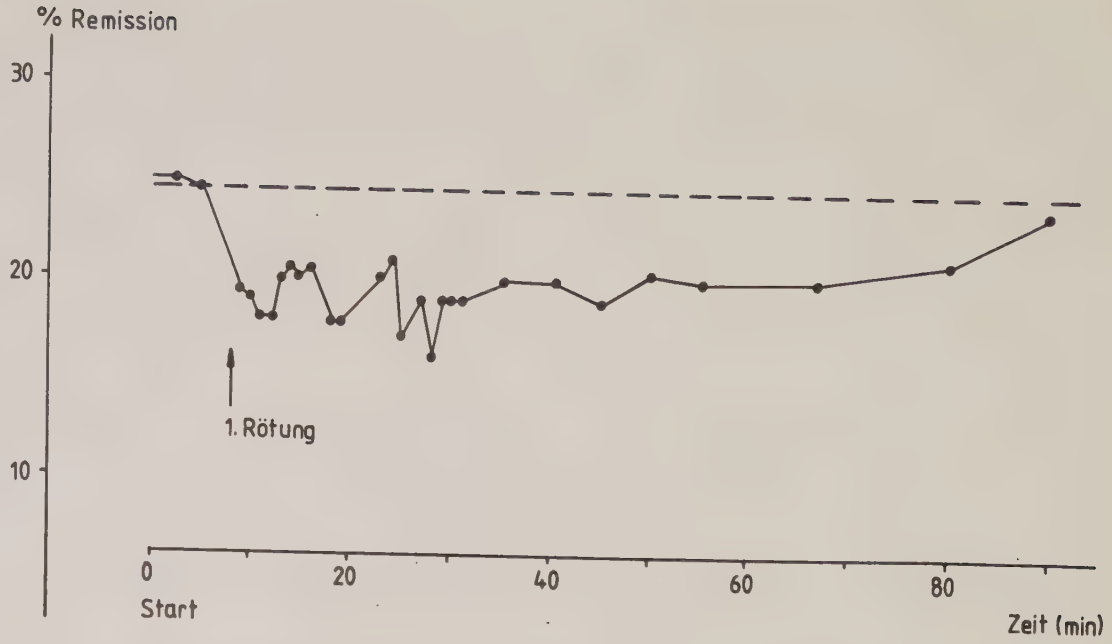


Abb. 49 : Remissionsmessung an der Unterarminnenseite nach Applikation von 1% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline in Abhängigkeit von der Zeit
---- Remissionswert der Haut mit wirkstofffreier Grundlage

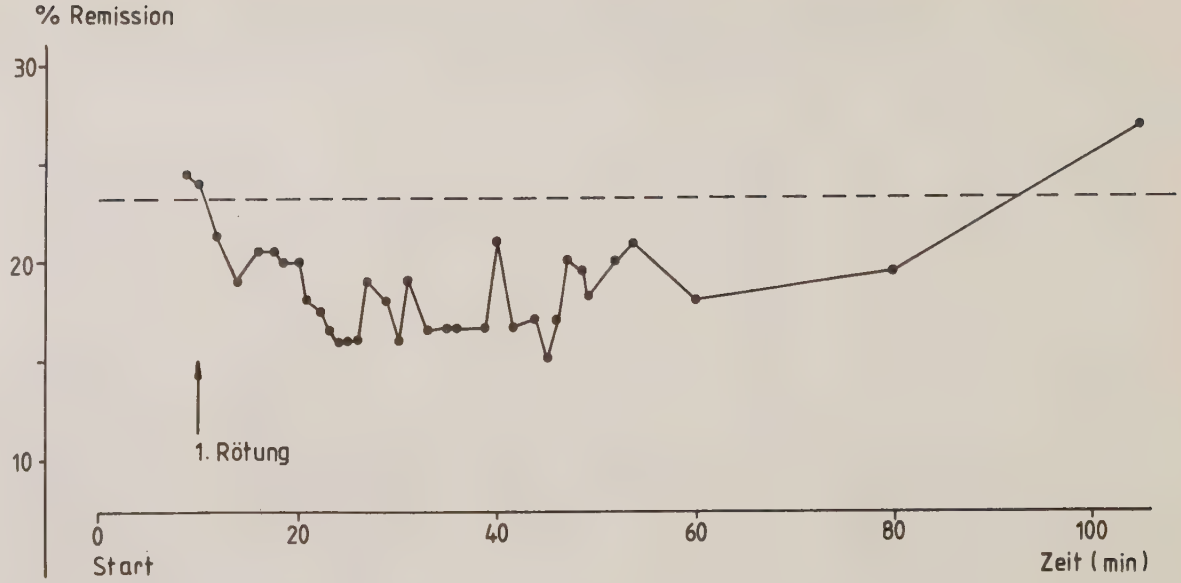


Abb. 50 : Remissionsmessung an der Unterarminnenseite nach Applikation von 4% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline in Abhängigkeit von der Zeit
----- Remissionswert der Haut mit wirkstofffreier Grundlage

10 Versuchen). Auf die Vergleichsstelle werden 10 mg wirkstofffreie Grundlage aufgetragen und erneut die Remissionswerte bestimmt. Die Differenz zur unbehandelten Haut stellt den Effekt der Grundlage dar. Die Ausgangsremissionswerte an der Meßstelle werden um diesen Wert vermindert und dienen als Bezugsgröße. Nach Applikation der nicotinsäurebenzylesterhaltigen Salben wird in Abständen von 2 - 3 Minuten gemessen und das Gerät nach jeder Messung erneut abgeglichen.

Mit dem entstehenden Erythem ergibt sich hier ebenfalls eine deutliche Verminderung der Remissionswerte. Der Effekt der wirkstofffreien Grundlagen findet weitgehend Berücksichtigung. Die Remissionswerte des Erythems unterscheiden sich allerdings schon nach etwa 90 Minuten nicht mehr von denen der Grundlage, obwohl die Hautrötung wesentlich länger zu sehen ist.

Durch das Gerät bedingt wird zudem nur eine Fläche von 7,1 cm^2 in die Remissionsmessung einbezogen, die Flächenausbreitung F_R läßt sich daher nur sehr schwierig erfassen. Eine kontinuierliche Messung der Rötungsintensität über die Zeit ist nicht möglich, da nach jeder Messung erneut auf 0 bzw. 100% Remission geeicht werden muß. Es wird daher bei den Reihenversuchen auf den Einsatz des Remissionsphotometers verzichtet.

Der Beginn und die Dauer der Rötung werden vom Probanden protokolliert. Zur Erfassung der Ausbreitung der Rötung F_R wird die Meßstelle vor und sofort nach Applikation der Salbe unter definierten Bedingungen photographiert [+)], weitere Aufnahmen nach

---

[+)] Kamera: Asahi Pentax, SP II; Filter: Interferenzfilter Schott VG 9; Blitzgerät: Bauer E 25 A; Film Ilford HP 4; Aufnahmeentfernung 50 cm.

5, 10, 15 und 20 Minuten, danach alle 20 Minuten. Eine Grauskala mit abgestuften Grautönen wird mitphotographiert, nach Vergrößerung lassen sich nun die Erythem - Grautöne mit denen der Grauskala [+)] vergleichen (12). Die Eigenreflexion verschiedener Salbengrundlagen beeinträchtigt jedoch den Vergleich (Glanzeffekt). Die Intensität der Rötung ist also mit der gegebenen Versuchsanordnung in erster Linie als qualitativer Parameter anzusehen. Quantitativ läßt sich für einen bestimmten Zeitintervall (5 bis 80 Minuten nach Applikation) die Ausbreitung der Rötung F_R durch Planimetrieren bestimmen und in Prozent der Ausgangsfläche berechnen.

1.2.2 Parameter der Temperaturerhöhung

Zur Erfassung der Hauttemperatur werden verschiedene Methoden beschrieben (17, 23, 82, 91). Die Temperaturmessung wird mit Thermistorsonden (Yellow Springs Instruments Co., Nr. 421, Serie 400; Anzeigegerät YSI Modell 43; Yellow Springs, Ohio) durchgeführt. Die Kontaktfläche der Sonde beträgt 0,64 cm^2. Um konstanten Auflagedruck zu garantieren sind die Sonden an einer Halterung mit Spiralfeder befestigt, resultierendes Auflagegewicht 29 g (Abb. 51). Die Anzeigengenauigkeit im Bereich von 30 - 40°C beträgt 0,05°C. Zur Verhinderung von Okklusion durch die aufliegenden Thermistorsonden wird diskontinuierlich gemessen: Alle 5 Minuten, nach einer Stunde alle 10 Minuten (Meßdauer 1 Minute). Die einzelnen Messungen werden fortlaufend auf einen Schreiber registriert, der vom Probanden nicht direkt

---

[+)] Grauskala der Fa. Kodak

eingesehen werden kann (Schreiber: Typ Servogor S; Metrawatt, Nürnberg). Vor der eigentlichen Messung erfolgt die Bestimmung der Ausgangstemperatur an der Meß- sowie Vergleichsstelle durch mindestens 6 Einzelmessungen innerhalb 30 Minuten (Abb. 52). Zur Auswertung der Temperaturerhöhung wird als Vergleich die Temperatur des Hautareals mit wirkstofffreier Grundlage herangezogen [+)]. Es kann die maximale Temperaturerhöhung (Tmax), die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Temperaturerhöhung (t_{Tmax}) und die Dauer der Temperaturerhöhung (D_T) ermittelt werden. Die Fläche unter der Temperaturzunahme/Zeit-Kurve (F/T) wird durch Planimetrieren bestimmt.

[+)] Bei ungleicher Ausgangstemperatur muß die Vergleichskurve so verschoben werden, daß die Ausgangstemperatur der Vergleichskurve gleich der Ausgangstemperatur der Meßkurve ist.

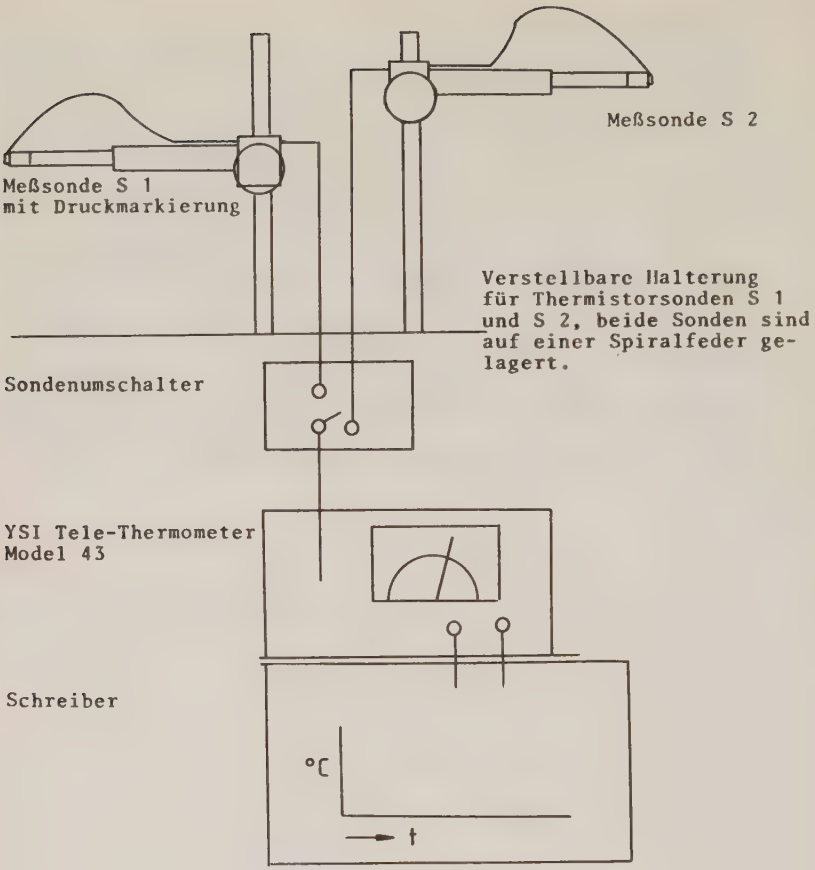


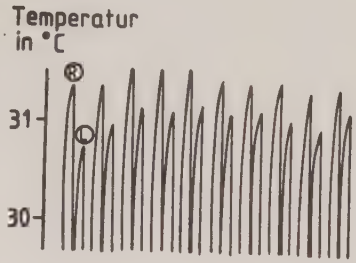
Abb. 51: Meßeinrichtung zur Bestimmung der Temperaturerhöhung auf der Haut

Meßstelle rechts IV R
Sonde 2
Ausgangstemperatur: Mittelwert aus
10 Messungen 31,49°C

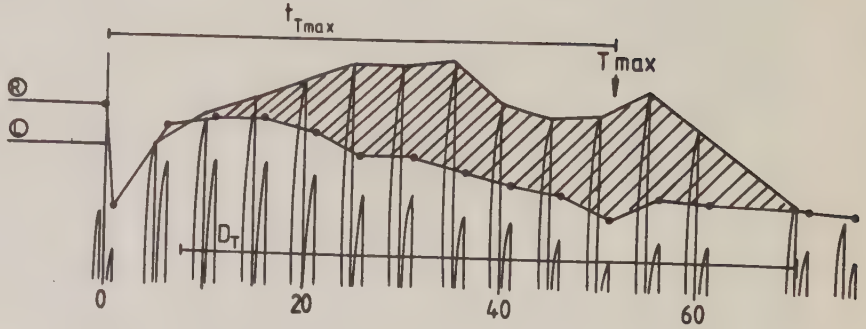
Vergleichsstelle links II (PA-Gel wirkstoff-
Sonde 1 L frei)
Ausgangstemperatur: Mittelwert aus
10 Messungen 31,08°C

Die Differenz der Ausgangstemperaturen beträgt 0,41°C, die Vergleichstemperatur links wird daher um diesen Betrag erhöht

Fläche unter der Temperaturzunahme/Zeit-Kurve	(F/T)	16,8 cm^2
Maximale Temperaturerhöhung	(Tmax)	1,1 °C
Zeit bis zum Erreichen der maximalen Temperaturerhöhung	(t_{Tmax})	51 min
Dauer der Temperaturerhöhung	(D_T)	62 min



Messung der Ausgangstemperatur



Beginn der Messung (Applikation der Salben)
Zeit (Minuten)

Abb. 52 : Beispiel zur Auswertung der Temperaturparameter. Proband (A), Polyacrylatgel 0,125% Nicotinsäurebenzylester

2. Versuchsreihen

In Tab. 41 sind die Versuchsreihen hinsichtlich der verwendeten Salbengrundlagen, eingesetzten Konzentrationen, untersuchten Meßparametern und Zahl der Versuchspersonen aufgeschlüsselt.

2.1 Wirksamkeitsvergleich über die gesamte Konzentrations-Wirkungs-Kurve

2.1.1 Konzentrationsreihen mit allen Meßparametern

Wirksamkeitsvergleich von 5 verschiedenen Testzubereitungen mit Vaseline als Standard an jeweils 5 männlichen Probanden. 6 - 10 verschiedene Nicotinsäurebenzylesterkonzentrationen in geometrischer Folge (0,006 - 4%). Testzubereitungen: wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, Polyacrylatgel, Salhumin Gel, Mikroemulsion und Polyethylenglykolsalbe.

In Tab. 42 - 51 sind die Meßwerte für die einzelnen Rötungs- und Temperaturparameter bei allen Konzentrationen aufgeführt. Für diese wird die Rangfolge der Wirksamkeit bezogen auf Vaseline (Standard) bestimmt. Dazu werden die Wirkungsdifferenzen von Test- und Standardzubereitung für alle Salben und Meßparameter ermittelt. Dies erfolgt bei Nicotinsäurebenzylesterkonzentrationen zwischen 0,125 und 2%, da in diesem Bereich für alle Probanden Meßwerte vorliegen. Die Summen der Wirkungsdifferenzen für jede Zubereitung stellen ein Maß für die relative Wirksamkeit gegenüber Vaseline dar und lassen sich für jeden Meßparameter in einer Rangfolge ordnen (10, 77). Bei parallelen Dosis-Wirkungs-Kurven von Test- und Standardzubereitung werden über die mittle-

Tab. 41 : Zusammenstellung der Versuchsreihen

Art des Versuches:	Konzentrationsreihe			Blocktest			
Anzahl der untersuchten Konzentrationen	5 - 10			2	1		1 +)
Eingesetzte Konzentrationen an Nicotinsäurebenzylester	0,006 - 4%			0,063 und 1%	0,125%		0,5%
Meßparameter	alle	t_R	D_R	alle	t_R	D_R	t_R
Grundlagen	Anzahl der Versuchspersonen						
Vaseline	5	54	16	9	58	28	20
Polysynlansalbe		20			30		
Wachssalbe					58	28	20
Wollwachsalkoholsalbe					28	28	20
Wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe	1			9	58	28	20
Hydrophile Salbe					58	28	
Wasserhaltige hydrophile Salbe					58	28	20
Mikroemulsion APV	1	16	16		58	28	20
Polyacrylatgel	1	13		9	58	28	20
Salhumin Gel	1			9	28	28	
Polyethylenglykolsalbe	1	5		9	58	28	20
wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe					30		20

+) Okkulusivbedingungen

Tab. 42 : Einzelmeßwerte Proband (L), Nicotinsäurebenzylester in Vaseline

Nicotinsäure-benzylester (%)	t_R (min)	D_R (Std.)	F_R (%)	Tmax (^oC)	t_{Tmax} (min)	D_T (min)	F/T (cm^2)
3	4,5	12	54,2	0,8	60	80	16,3
2	4	- ++)	77,1	1,85	55	108	45,9
	3	12	-	2,05	55	120	67,3
	5,5	12	185,6	1,0	50	90	18,1
1	3,5	13	22,6	1,85	65	105	53,0
	4,5	12	35,1	1,55	50	110	37,0
	3	12,5	32,1	0,65	40	80	11,4
0,25	7,5	9	9,8	0,5	15	56	4,6
	4,5	4	20,5	0,8	25	72	14,5
	6	12	18,8	2,6	60	110	74,3
	11	4	-	0,35	33	48	3,7
	9,5	4	0	0,35	35	43	3,2
0,063	16	-	0	1,4	43	93	28,8
	8	4	0	1,8	35	74	29,3
	11	1,5	0	0,65	35	46	6,1
0,031	20 +++)	1,5	0	0	-	0	0
	0	0	0	1,35	35	29	1,6
	0	0	0	0,2	35	53	2,7

+) 1 cm^2 = 0,4 $^oC \cdot min$

++) - : kein Meßwert

+++) 0 beim Meßparameter t_R : kein Wirkungseintritt innerhalb der Meßzeit (reziproker Wert der Latenzzeit $1/t_R$ = 0)

Tab. 43 : Einzelmeßwerte Proband (L), Nicotinsäurebenzylester in wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe

Nicotinsäure-benzylester (%)	t_R (min)	D_R (Std)	F_R (%)	Tmax (°C)	t_{Tmax} (min)	D_T (min)	F/T (cm^2)
	3	12	67,1	1,8	30	100	36,7
	3,5	12	150,4	1,55	55	96	31,0
2	2,5	12	67,6	1,5	41	103	40,2
1	7	6,5	45,1	2,05	42	123	51,4
	3,5	9	-	1,95	30	108	50,2
	4,5	8,5	28,0	0,9	35	68	14,6
0,5	3,5	8	0	1,7	60	105	46,8
	4,5	6,5	-	1,9	40	90	43,4
	6,5	7	11,1	0,95	50	52	10,7
0,25	4,5	-	0	0,7	40	63	10,5
	4,5	8	29,3	1,0	40	70	16,6
	4	6	22,5	1,4	30	73	21,6
0,125	7	4,5	0	1,6	40	77	25,5
	6	7	0	1,1	50	77	15,5
	7	6	0	1,8	30	100	30,4
0,063	5,5	2	0	0,95	40	90	15,7
	8,5	7	0	0,9	45	53	12,4
	7	2,5	0	0,55	25	50	4,9
0,031	10	9,5	0	0	-	0	0
	11	2,5	0	0,15	30	10	0,2
	13	2	0	0,45	15	60	6,5
0,015	25	4	0	0,3	23	41	1,7
	13,5	3	0	0,25	15	16	0,8
	0	0	0	0	-	0	0

Tab. 44 : Einzelmeßwerte Proband (A), Nicotinsäurebenzylester in Vaseline

Nicotinsäure-benzylester (%)	t_R (min)	D_R (Std)	F_R (%)	Tmax (^oC)	t_{Tmax} (min)	D_T (min)	F/T (cm^2)
3	6	7	290	0,8	47	80	11,2
	8	9	172	1,0	50	140	29,1
	4	8	184	1,1	55	120	34,0
2	10	8	34	0,9	105	125	27,3
	9	8	151	1,3	60	88	24,8
	8	12	110	0,6	35	73	10,2
1	8	5	94	0	-	0	0
	11	8	-	1,2	45	120	24,0
	5	12	0	2,1	50	110	49,2
0,25	13	3	0	0,1	45	22	1,1
	13	7	0	1,4	45	110	33,8
	13	4	0	0,1	59	75	14,1
0,063	14	3	-	0,7	31	40	6,9
	11	5	-	0,7	30	100	15,9
	0	0	-	0	-	0	0
0,031	0	0	-	0	-	0	0
	0	0	-	0	-	0	0
	0	0	-	0	-	0	0

Tab. 45 : Einzelmeßwerte Proband (A), Nicotinsäurebenzylester in Polyacrylatgel

Nicotinsäure-benzylester (%)	t_R (min)	D_R (Std.)	F_R (%)	Tmax (°C)	t_{Tmax} (min)	D_T (min)	F/T (cm^2)
3	5	8	150	1,4	45	95	27,6
	9	5	156	2,0	50	125	55,5
	5	7	-	1,4	41	90	28,1
2	7	12	32	0,9	40	66	11,5
	9	12	113	1,4	62	100	27,4
	7	7	92	1,6	55	105	40,6
1	10	7	75	1,5	30	113	29,2
	7	10	116	1,5	45	80	29,8
	5	12	105	1,4	55	118	36,9
0,5	15	12	0	0,9	90	91	22,3
	9	5	-	0,9	30	70	13,8
	9	11	129	0,5	35	76	8,9
0,25	10	7	0	1,8	60	73	17,0
	14	7	30	1,1	29	36	6,3
	11	7	-	1,3	55	90	23,2
0,125	7	8	60	1,8	41	109	34,4
	15	5	12	0,5	88	130	20,2
	8	10	0	1,1	35	62	16,8
0,063	9	4	0	1,9	45	93	32,3
	9	3	0	0,4	50	73	6,8
	15	6	3	0,2	45	30	1,3

Tab. 45 : Fortsetzung, Einzelmeßwerte Proband (A), Nicotinsäurebenzylester in Polyacrylatgel

Nicotinsäure-benzylester (%)	t_R (min)	D_R (Std.)	F_R (%)	Tmax (^oC)	t_{Tmax} (min)	D_T (min)	F/T (cm^2)
0,031	16	3	0	0,7	45	80	7,5
	0	0	0	0	-	0	0
	13	3	0	1,0	40	140	43,2
0,016	20	3	0	0,4	10	27	2,3
	25	3	0	0,4	15	28	2,2
	15	3	0	0	-	0	0
0,008	0	0	-	0	-	0	0
	27	1,5	-	0	-	0	0
	0	0	-	0,2	25	45	3,3

Tab. 46 : Einzelmeßwerte Proband (R), Nicotinsäurebenzylester in Vaseline

Nicotinsäure-benzylester (%)	t_R (min)	D_R (Std.)	F_R (%)	Tmax (°C)	t_{Tmax} (min)	D_T (min)	F/T (cm^2)
3	7	8	96,0	2,5	62	135	78,5
	7	7	73,1	3,0	65	134	94,7
2	4	-	-	1,85	40	123	60,8
	6	11	-	2,95	70	150	101,0
	6	12	-	3,75	75	165	143,5
1	4	-	117,0	2,35	48	140	84,7
	4	8	71	1,55	55	91	39,2
	4	12	-	3,2	60	122	83,4
0,25	9	-	30,6	1,8	65	124	49,0
	9	-	-	2,55	56	85	49,1
	11	6	34,1	3,3	70	118	98,6
0,063	15	1,5	0	1,5	45	77	27,2
	18	2	5,6	0	-	0	0
	23	1,5	0	0,95	55	105	19,9
0,031	0	0	0	0	-	0	0
	0	0	0	0	-	0	0

Tab. 47 : Einzelmeßwerte Proband (R), Salhumin Gel mit unterschiedlichen Nicotinsäurebenzylesterkonzentrationen

Nicotinsäure-benzylester (%)	t_R (min)	D_R (Std.)	F_R (%)	Tmax (°C)	t_{Tmax} (min)	D_T (min)	F/T (cm^2)
2	10	15	94,7	2,9	62	90	54,9
	12	7	-	2,35	60	126	71,8
	10	12	32,4	1,8	40	86	37,5
1	12,5	-	27,6	2,35	45	103	50,4
	12	4	0,1	2,0	60	100	43,3
	9	11	-	2,5	57	130	68,9
0,5	10	-	-	3,25	50	93,5	68,0
	12	12	21,8	3,4	72	110	89,7
	8	9	29,9	3,2	70	116	89,9
0,25	15	-	0	1,15	52	63	17,9
	8	2,5	0	2,6	55	125	68,6
	8	3	0	3,45	50	113	104,5
	6	8	-	1,45	70	100	39,2
0,125	15	-	0	2,85	71	83	54,8
	10	3	0	3,25	65	110	80,7
	8	3,5	-	2,1	55	100	42,4
0,063	15	1,5	0	2,45	55	78	12,5
	15	3	0	0,85	57	75	14,9
	13	4	0	0,95	55	125	68,4
	18	2,5	0	1,25	45	83	28,2
0,031	0	0	0	0,65	32	40	6,4
	20	3	0	0,65	52	36	5,2
	30	3	0	0,55	45	128	6,7
0,015	0	0	0	0,25	50	30,6	2,2
	40	3	0	0,25	60	19	1,2
	15	2,5	0	0,25	31	32	1,8
0,007	0	0	0	0	-	0	0

Tab. 48 : Einzelmeßwerte Proband (T), Nicotinsäurebenzylester in Vaseline

Nicotinsäure-benzylester (%)	t_R (min)	D_R (Std.)	F_R (%)	Tmax (^oC)	t_{Tmax} (min)	D_T (min)	F/T (cm^2)
3	9	7	36,0	2,1	70	122	61,6
	4	12	49,0	1,2	45	80	13,5
	4	12	46,0	2,15	55	125	59,7
2	8	12	37,0	1,6	70	117	37,5
	5	12	31,0	2,25	52	140	91,7
	3	12	50,0	1,4	45	108	37,6
1	13	7	12,0	1,1	45	119	21,0
	7	7	7,0	2,0	80	102	52,8
	9	6	7,0	0,9	50	53	12,1
	8	8	43,0	2,2	51	95	48,6
0,5	8	-	-	1,7	65	98	41,1
	9	-	-	2,15	80	102	45,7
	8	-	-	1,4	75	94	27,4
	12	-	-	2,2	70	120	62,5
0,25	16	10	0	2,2	45	97	47,8
	16	9	0	1,3	65	96	28,5
	10	6	3	1,5	60	108	38,4
0,125	18	-	0	0,5	55	38	3,5
	15	-	0	0,95	60	71	18,1
0,063	20	3	0	0,9	45	64	11,9
	24	2	0	1,1	55	76	18,4
	24	3	0	0	-	0	0
0,031	40	0,5	0	0,2	12	39	1,7
	49	0,5	0	0,1	20	4	0,1
	50	1	0	0	-	0	0

Tab. 49: Einzelmeßwerte Proband (T), Nicotinsäurebenzylester in Polyethylenglykolsalbe

Nicotinsäure-benzylester (%)	t_R (min)	D_R (Std.)	F_R +) (%)	Tmax (^oC)	t_{Tmax} (min)	D_T (min)	F/T (cm^2)
4	10	12		0	-	0	0
	12	10		1,9	55	115	41,8
	8	12		0,2	32	19	0,6
2	12	8		1,4	52	115	30,6
	22	2		0,3	32	56	3,4
	12	9		0,6	35	65	9,1
1	42	3		0,2	42	67	3,2
	37	3		0,3	70	42	2,9
	19	2		0,2	5	12	0,4
0,5	18	3		0	-	0	0
	28	1		0	-	0	0
	32	2		0,4	3	21	1,4
0,25	0	0		0	-	0	0
	0	0		0	-	0	0
	180	1		0,1	5	20	1,3
0,125	0	0		0	-	0	0

+) Keine Flächenausbreitung von 0,125 - 4%

Tab. 50: Einzelmeßwerte Proband (B), Nicotinsäurebenzylester in Vaseline

Nicotinsäure-benzylester (%)	t_R (min)	D_R (Std.)	F_R (%)	Tmax (^oC)	t_{Tmax} (min)	D_T (min)	F/T (cm^2)
3	9	6	7,1	0,8	45	60	10,4
	8	12	67,2	2,8	40	93	68,5
	5	4	27,0	2,8	45	92	49,7
2	10	12	14,2	2,5	80	120	69,1
	17	12	34,3	1,75	60	95	40,0
	12	12	10,0	0,9	30	55	11,5
1	5	5	5,0	0,1	34	10	0,4
	18	6	7,1	1,5	60	96	35,1
	18	2	0	0,5	20	13	1,3
	10	8	57,7	1,7	45	80	34,0
0,25	20	1	0	0,4	30	40	4,1
	13	6	0	1,1	60	63	20,8
	25	4	0	0,3	4	10	0,8
0,063	0	-	0	0,1	4	6	0,3
	18	3	0	1,1	40	43	7,6
	18	2	0	0,55	5	80	10,3
0,015	0	0	0	0	-	0	0

Tab. 51 : Einzelmeßwerte Proband (B), Nicotinsäurebenzylester in Mikroemulsion

Nicotinsäure-benzylester (%)	t_R (min)	D_R (Std)	F_R (%)	Tmax (^oC)	t_{Tmax} (min)	D_T (min)	F/T (cm^2)
4	6	12	17,7	2,5	60	83	53,8
	10	12	10,1	0,8	35	43	6,6
	12	3	10,0	1,8	78	60	28,8
2	9	6	28,2	1,75	40	87	35,4
	10	9	9,2	1,30	47	72	22,0
	12	12	0	0,60	14	35	4,7
1	6	5,5	6,9	0,90	35	90	19,4
	13	2	3,4	0,60	19	34	3,9
	0	-	0	0	-	0	0
0,5	20	1	0	0,40	35	43	4,2
	16	0	0	0,30	5	13	0,7
	0	-	0	0	-	0	0
0,25	0	0	0	0,1	10	2	0,0
0,125	0	0	0	0	-	0	0

ren Wirkungsdifferenzen und die gemeinsame Steigung entsprechend Gl. 7 die relativen Bioverfügbarkeitsfaktoren berechnet.

2.1.2 Bestimmung der ED_{50}

Die Bestimmung der ED_{50}-Werte für intensitätsbezogene Wirksamkeitsparameter wie Tmax setzt die Kenntnis der maximalen Wirkung (100% Wirkung), des Plateauwertes voraus. Bei der Bestimmung der Plateauwerte wird folgendermaßen verfahren:
Die gemessenen Wirkungen werden zunächst mit einer maximalen Wirkung, die oberhalb der höchsten gemessenen Wirkung liegt, in Logit-Werte transformiert und dazu die Regressionsgerade mit dem Bestimmtheitsmaß r^2 ermittelt [+)]. Dieser Vorgang wird unter schrittweiser Veränderung des Plateau-Wertes solange wiederholt, bis ein optimales Bestimmtheitsmaß erreicht wird [++)]. Auf Grund der starken Streuung der experimentellen Punkte ist eine iterative Annäherung an den gesuchten Plateauwert nur möglich, wenn

---

[+)] Die Auswertung der Daten erfolgten an einem Tischrechner (HP 97, Hewlett Packard), bzw. am Rechenzentrum der Universität Düsseldorf, wobei ich Herrn G. Lahm von der Technischen Universität München und Herrn Dr. Lehmacher vom Rechenzentrum der Universität Düsseldorf für die gewährte Hilfestellung danke.

[++)] Die Berechnung der Plateau-Werte erfolgt über ein Rechenprogramm: Beginn der Iteration 0,01°C über dem höchsten gemessenen Wert in Schritten von 0,01°C. Für den ersten gemessenen Null-Wert der Dosis-Wirkungs-Kurve wird ein Rechenwert eingesetzt (maximal gemessene Wirkung · 10^{-6}).

genügend Punkte auf der Dosis-Wirkungs-Kurve zur Verfügung stehen. In Abb. 53 sind die mit den errechneten Plateaus transformierten Kurven der Vaseline für alle Probanden gegen die Logarithmen der Konzentration aufgetragen. Die Bestimmtheitsmaße r^2 (Tab. 52) deuten darauf hin, daß die experimentellen Punkte zum Teil stark von der Geraden abweichen. Die ED_{50}-Werte der Vaseline liegen zwischen 0,03% (Proband L) und 0,3% Nicotinsäurebenzylester (Proband B).

Der Vergleich mit den Regressionsgeraden der nicht transformierten Dosis-Wirkungs-Kurven ergibt außerdem nur bei 3 von 10 Kurven eine verbesserte Anpassung an die Gerade nach Logittransformation (Tab. 52).

In Tab. 53 sind die in der beschriebenen Weise optimierten Plateauwerte für die Dosis-Wirkungs-Kurven des Parameters maximale Temperaturerhöhung zusammengestellt. Dabei ergibt sich zum Teil Übereinstimmung der Plateauwerte von Test und Standard (Proband L). Andererseits treten jedoch beträchtliche Unterschiede auf, obwohl bei Arzneiformen mit gleichem Wirkstoff aber unterschiedlicher Bioverfügbarkeit die gleiche maximale Wirkung zu erwarten ist (B II.1). Dies ist im Fall der Polyethylenglykolsalbe und der Mikroemulsion auf die ungünstige Verteilung der Meßpunkte auf der Dosis-Wirkungs-Kurve zurückzuführen (Meßpunkte nur im unteren Wirksamkeitsbereich). Bei der gegebenen Streuung der experimentellen Punkte ist daher die Berechnung der Plateaus problematisch. Trotz dieser Schwierigkeiten wird für alle intensitätsbezogenen Dosis-Wirkungs-Kurven die Bestimmung der ED_{50}-Werte exemplarisch durchgeführt. Dazu er-

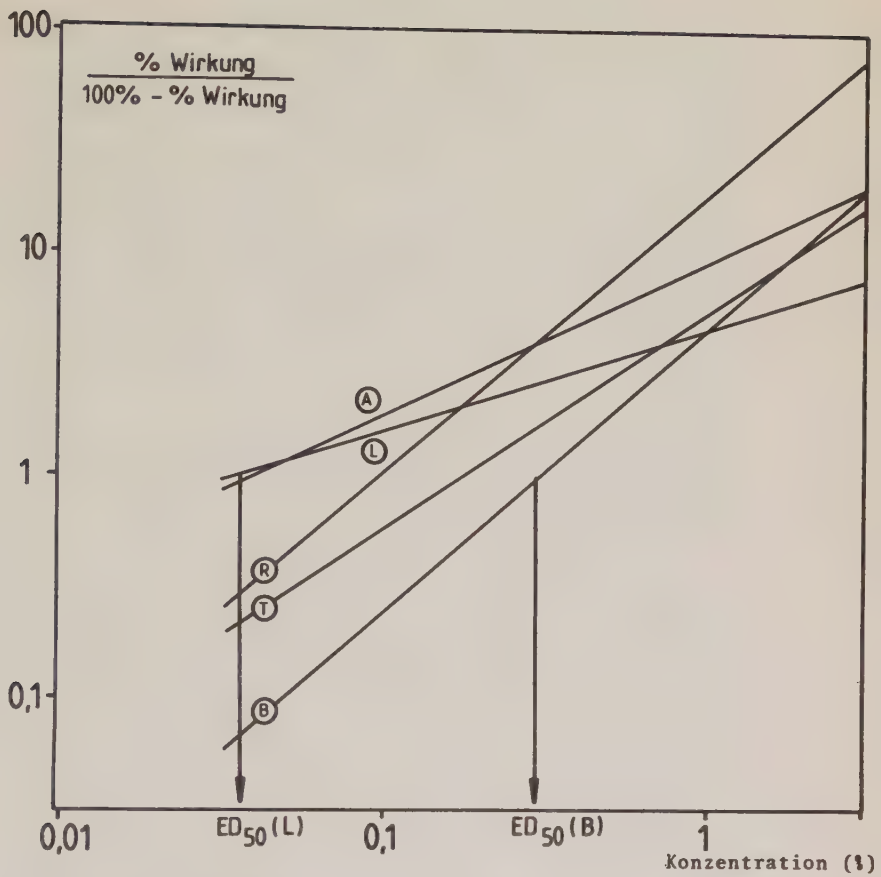


Abb. 53 : Maximale Temperaturerhöhung (Tmax) transformiert nach $\frac{\%\ \text{Wirkung}}{100\%-\%\ \text{Wirkung}}$ in Abhängigkeit von der Konzentration an Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (x- und y- Achse logarithmische Auftragung; Plateauwerte Tab. 53)

Versuchspersonen L, A, R, T, B

Tab. 52 : Vergleich der Bestimmtheitsmaße (r^2) der linearen Regression für die Konzentrations-Wirkungs-Kurven der maximalen Temperaturerhöhung
1. Wirkung in Abhängigkeit vom Logarithmus der Konzentration
2. Logit-Wert der Wirkung ($\log \frac{\% \text{ Wirkung}}{100\% - \% \text{ Wirkung}}$) in Abhängigkeit vom Logarithmus der Konzentration (Plateauwerte Tab. 53)

Bestimmtheitsmaß r^2

Proband	L		R		A		T		B	
y-Achse +)	VAS	WALK	VAS	SALHU	VAS	PA	VAS	PEG	VAS	ME
Wirkung	0,198	0,812	0,840	0,720	0,794	0,780	0,783	0,849	0,856	0,895
Logit der Wirkung	0,232	0,872	0,677	0,461	0,365	0,792	0,752	0,762	0,595	0,855

+) x-Achse log Konzentration (Dosis)

folgt zunächst Überprüfung der Parallelität der transformierten Dosis-Wirkungs-Kurven (Tab. 54). Ausgehend von dem maximal gefundenen Plateau, das für alle Zubereitungen bei einem Probanden gilt, werden die ED_{50}-Werte aus den transformierten Kurven graphisch ermittelt (Abb. 54). Dem Logitwert 0 ($\log \frac{\text{Wirkung 50\%}}{\text{Wirkung 100\%-Wirkung 50\%}} = \log 1$) entspricht auf der Abszisse der Wert für den Logarithmus der ED_{50}. Die Berechnung der ED_{50}-Werte läßt sich nach Gl. 13 durchführen bei Logit 0 gilt: $ED_{50} = 10^{-\log K}$.

Tab. 53 : Berechnete Plateaus der Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die maximale Temperaturerhöhung (Tmax, in ^{o}C)

	Tmax (^{o}C)					
Proband	VAS	WALK	PA	SALHU	PEG	ME
L	1,65	1,64				
A	1,08		1,63			
R	2,86			3,32		
T	2,04				0,78	
B	2,14					1,71

Tab. 54 : Parallelitätstest (Steigungsvergleich) der transformierten Konzentrations-Wirkungs-Kurven (Tab. 1 - 10)

Meßparameter Tmax

\+ signifikant unterschiedliche Steigung für P = 0,1

Proband	Testgrundlage	getest. Konz. Vaseline (Standard)	Steigung	getest. Konz. Testgrund-lage	Steigung
L	WALK +	6	0,47	8	1,49
A	PA	5	0,31	10	0,80
R	SALHU	5	0,64	8	0,83
T	PEG	8	0,97	5	1,34
B	ME	5	1,29	5	1,61

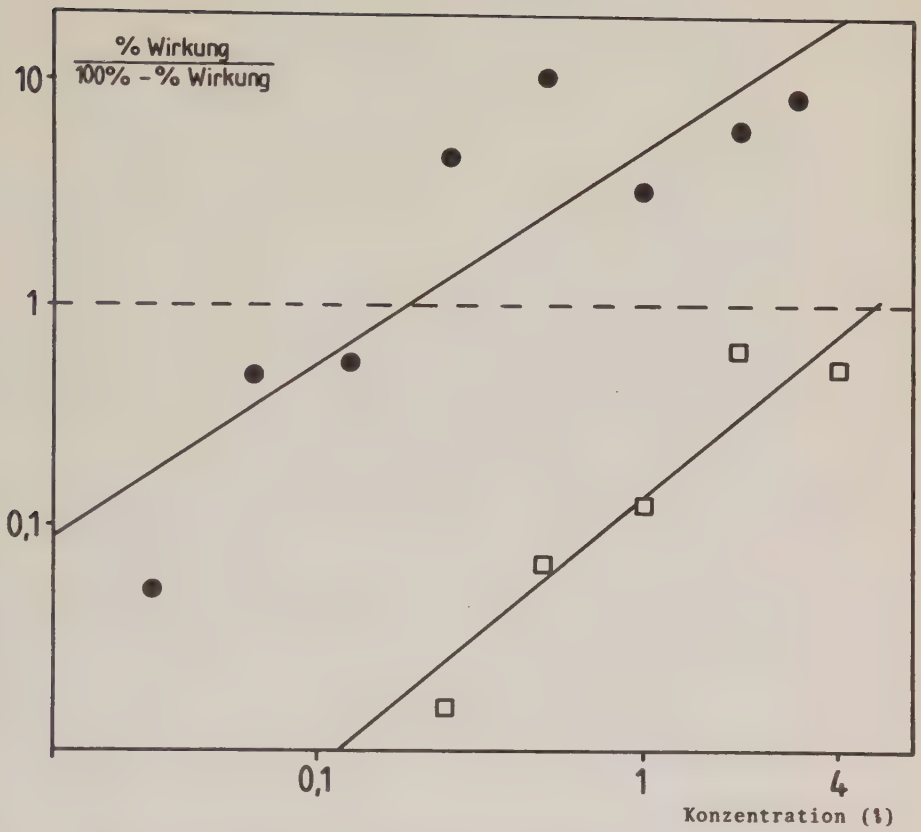


Abb. 54 : Wirksamkeitsparameter maximale Temperaturerhöhung (Tmax) transformiert nach log $\frac{\%\ \text{Wirkung}}{100\%-\%\ \text{Wirkung}}$ in Abhängigkeit von der Konzentration (x- und y-Achse logarithmische Auftragung)

Versuchspersonen (T), Mittelwerte aus 3 Versuchen

● Vaseline

□ Polyethylenglykolsalbe

2.1.3 Konzentrationsreihen mit den Meßparametern $1/t_R$ und D_R

Wirksamkeitsvergleich von 4 verschiedenen Testzubereitungen mit Vaseline als Standard an jeweils 5 - 20 Probanden, 5 - 10 unterschiedliche Konzentrationen an Nicotinsäurebenzylester in geometrischer Folge (0,006 - 4%). Testzubereitung: Polysynlansalbe, Polyacrylatgel, Polyethylenglykolsalbe und Mikroemulsion.

In Tab. 55 - 58 sind die gemessenen Wirksamkeiten $1/t_R$ bzw D_R für die einzelnen Probanden und Konzentrationen aufgeführt. Für den linearen Bereich der entsprechenden Dosis-Wirkungs-Kurven wird die Regressionsgerade für jeden Probanden ermittelt und auf Parallelität geprüft. Ausgehend davon erfolgt Berechnung der relativen dauer- bzw. zeitbezogenen Bioverfügbarkeitsfaktoren f_D, Vaseline als Standard = 1 (log f_D = (W Test - W Standard)/a). Aus den f_D-Werten der jeweiligen Probanden wird der Mittelwert gebildet.

2.2 Wirksamkeitsvergleich mit 1 bzw. 2 Konzentrationen

2.2.1 2-Punkt-Test

Wirksamkeitsvergleich von Vaseline, wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe, Polyacrylatgel, Salhumin Gel und Polyethylenglykolsalbe an 9 Versuchspersonen (7 männlich, 2 weiblich) in einem randomisierten Block (zweifach Cross-over). Von jedem Probanden werden alle Rötungs- und Temperaturparameter bei 2 Konzentrationen 0,063 und 1% Nicotinsäurebenzylester gemessen.

Tab. 55 : Reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$; min^{-1}), Einzelwerte 20 Versuchspersonen, je 10 Nicotinsäurebenzylesterkonzentrationen in Vaseline und Polysynlansalbe

Proband	Vaseline Nicotinsäurebenzylesterkonzentration (%)									
	3,05	1,52	0,76	0,38	0,19	0,1	0,05	0,02	0,01	0,006
1	0,267	0,211	0,211	0,174	0,19	0,133	0,1	0,148	0,098	0,04
2	0,182	0,167	0,222	0,111	0,1	0,143	0,091	0,125	0,111	0
3	0,222	0,125	0,098	0,073	0,083	0,08	0,038	0,048	0,033	0
4	0,25	0,167	0,222	0,308	0,143	0,125	0,1	0,174	0,111	0,04
5	0,2	0,174	0,182	0,182	0,058	0,077	0,057	0,056	0,045	0
6	0,154	0,091	0,133	0,118	0,067	0,053	0,029	0,024	0	0
7	0,2	0,16	0,154	0,125	0,095	0,25	0,069	0,074	0	0,085
8	0,1	0,154	0,111	0,08	0,071	0,08	0,082	0,093	0	0,063
9	0,25	0,2	0,2	0,2	0,143	0,091	0,083	0,083	0,053	0
10	0,5	0,333	0,2	0,2	0,167	0,125	0,111	0,111	0	0,077
11	0,125	0,083	0,083	0,044	0,059	0	0,021	0,021	0,025	0,034
12	0,25	0,167	0,167	0,2	0,111	0,067	0,091	0,063	0	0
13	0,167	0,143	0,125	0,125	0,143	0,1	0,048	0,071	0	0,067
14	0,2	0,125	0,143	0,2	0,143	0,1	0,083	0,111	0	0,037
15	0,133	0,154	0,154	0,222	0,1	0,087	0,095	0,08	0	0
16	0,2	0,167	0,1	0,111	0,083	0,063	0,048	0,05	0	0
17	0,138	0,138	0,174	0,035	0,074	0,071	0,044	0,047	0	0
18	0,222	0,1	0,167	0,125	0,073	0,114	0,16	0,048	0	0
19	0,286	0,308	0,286	0,036	0,08	0,129	0,25	0,091	0	0
20	0,286	0,182	0,154	0,16	0,111	0,129	0,067	0,1	0	0

Tab. 55 : Teil 2

Proband	Polysynlansalbe Nicotinsäurebenzylesterkonzentration (%) 4	2	1	0,5	0,25	0,13	0,06	0,03	0,015	0,007
1	0,235	0,286	0,2	0,167	0,091	0,133	0,148	0,083	0,077	0,125
2	0,2	0,222	0,222	0,182	0,143	0,133	0,087	0,095	0,125	0
3	0,148	0,2	0,2	0,143	0,095	0,093	0,063	0,047	0	0
4	0,25	0,143	0,222	0,143	0,167	0,333	0,125	0,143	0	0
5	0,2	0,133	0,154	0,093	0,143	0	0,037	0,083	0,057	0
6	0,1	0,105	0,143	0,095	0,091	0,077	0,038	0,083	0	0
7	0,2	0,066	0,143	0,118	0,118	0,111	0,08	0,089	0,037	0,4
8	0,125	0,063	0,1	0,154	0,125	0,08	0,05	0,071	0,038	0,087
9	0,2	0,167	0,167	0,167	0,1	0,067	0,067	0,056	0,032	0
10	0,5	0,333	0,25	0,25	0,25	0,25	0,1	0,125	0,111	0,111
11	0,167	0,083	0,143	0,071	0,048	0,091	0,053	0,033	0,034	0,031
12	0,5	0,5	0,25	0,25	0,2	0,167	0,083	0,05	0	0
13	0,167	0,143	0,125	0,125	0,143	0,1	0,048	0,071	0	0,067
14	0,2	0,25	0,143	0,2	0,143	0,1	0,083	0,111	0	0,037
15	0,133	0,154	0,154	0,222	0,1	0,087	0,095	0,08	0	0
16	0,167	0,167	0,133	0,125	0,125	0,111	0,091	0,067	0	0
17	0,167	0,148	0,143	0,114	0,095	0,093	0,069	0,043	0	0
18	0,286	0,267	0,2	0,19	0,16	0,111	0,111	0,059	0	0
19	0,25	0,25	0,222	0,235	0,167	0,148	0,148	0,087	0	0
20	0,235	0,148	0,167	0,2	0,083	0,077	0,032	0,049	0	0

Tab. 56 : Reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$; min^{-1}), Einzelwerte 13 Versuchspersonen, je 10 Nicotinsäurebenzylesterkonzentrationen in Vaseline und Polyacrylatgel

	Vaseline Nicotinsäurebenzylesterkonzentration (%)									
Proband	3,05	1,52	0,76	0,38	0,19	0,1	0,05	0,02	0,01	0,006
21	0,111	0,129	0,118	0,129	0,118	0,06	0,066	0	0	0
22	0,138	0,095	0,078	0,118	0,074	0,093	0,045	0	0	0
23	0,2	0,16	0,143	0,16	0,121	0,087	0,066	0	0	0
24	0,138	0,121	0,143	0,108	0,105	0,067	0,071	0	0	0
25	0,111	0,111	0,111	0,1	0,083	0,056	0,043	0,029	0,023	0
26	0,111	0,077	0,091	0,063	0,045	0,043	0,032	0,028	0	0
27	0,071	0,05	0,045	0,045	0,04	0,037	0	0	0	0
28	0,167	0,2	0,111	0,091	0,1	0,077	0,036	0,031	0	0
29	0,167	0,2	0,1	0,083	0,067	0	0,033	0	0	0
30	0,333	0,25	0,25	0,333	0,167	0,133	0,118	0,077	0,133	0,1
31	0,286	0,333	0,25	0,4	0,143	0,143	0,125	0,069	0,167	0,125
32	0,333	0,2	0,286	0,286	0,125	0,167	0,111	0,08	0,143	0,1
33	0,333	0,25	0,25	0,333	0,154	0,143	0,118	0,067	0,167	0,118

Tab. 56 : Teil 2

Proband	Polyacrylatgel Nicotinsäurebenzylesterkonzentration (%) 3	2	1	0,5	0,25	0,13	0,06	0,03	0,015	0,007
21	0,286	0,286	0,222	0,2	0,2	0,133	0,133	0,105	0,121	0,063
22	0,333	0,25	0,2	0,182	0,25	0,143	0,111	0,1	0,143	0,056
23	0,5	0,286	0,25	0,333	0,222	0,133	0,143	0,118	0,143	0,077
24	0,286	0,211	0,182	0,222	0,174	0,154	0,125	0,105	0,118	0,053
25	0,167	0,1	0,111	0,083	0,077	0,083	0,063	0,083	0,033	0
26	0,143	0,143	0,083	0,071	0,056	0,077	0,067	0,05	0,026	0
27	0,077	0,091	0,056	0,05	0,059	0,048	0,053	0,043	0,023	0
28	0,167	0,25	0,2	0,2	0,1	0,167	0,143	0,125	0,071	0,071
29	0,143	0,25	0,2	0,1	0,125	0,083	0,067	0,059	0,028	0
30	0,286	0,4	0,333	0,25	0,182	0,2	0,182	0,133	0,125	0,056
31	0,125	0,091	0,067	0,143	0,067	0,083	0,063	0,056	0,053	0,091
32	0,154	0,077	0,054	0,125	0,125	0,083	0,067	0,047	0,031	0,044
33	0,25	0,333	0,25	0,222	0,133	0,167	0,125	0,1	0,111	0,059

Tab. 57 : Reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$; min^{-1}), Einzelwert
5 Versuchspersonen, je 10 Konzentrationen Nicotinsäurebenzylester in Vaseline bzw. 9 in Polyethylenglykosalbe

Vaseline
Nicotinsäurebenzylesterkonzentration (%)

Proband	3,05	1,52	0,76	0,38	0,19	0,1	0,05	0,02	0,01	0,006
34	0,211	0,2	0,174	0,138	0,095	0,103	0,063	0,039	0	0
35	0,235	0,143	0,222	0,174	0,148	0,133	0,071	0,026	0	0
36	0,222	0,25	0,182	0,2	0,167	0,118	0,091	0,038	0,029	0
37	0,1	0,083	0,1	0,091	0,083	0,059	0,031	0,056	0	0
38	0,091	0,083	0,1	0,111	0,1	0,063	0,3	0,045	0	0

Polyethylenglykolsalbe
Nicotinsäurebenzylesterkonzentration (%)

Proband	4	2	1	0,5	0,25	0,13	0,06	0,03	0,015
34	0,129	0,133	0,105	0,074	0,042	0	0	0	0
35	0,133	0,125	0,089	0,069	0,044	0	0	0	0
36	0,129	0,16	0,129	0,083	0,047	0,026	0	0	0
37	0,05	0,042	0,029	0	0	0	0	0	0
38	0,154	0,111	0,125	0,057	0	0	0	0	0

Tab. 58 : Dauer der Rötung (D_R; Std.) und reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$; min^{-1})
16 Versuchspersonen, je 5 Konzentrationen Nicotinsäurebenzylester in Vaseline und Mikroemulsion

D_R	Vaseline Nicotinsäurebenzylesterkonzentration (%)					Mikroemulsion Nicotinsäurebenzylesterkonzentration (%)				
Proband	3,0	2,0	1,0	0,25	0,063	4,0	2,0	1,0	0,5	0,25
39-54	5,92	6,82	5,3	2,55	1,13	6,48	6,8	2,62	2,07	1,0
	4,42	4,0	2,9	3,37	1,07	5,63	3,58	2,8	2,4	0,3
	5,8	5,57	2,4	2,12	1,18	3,05	2,9	1,78	1,8	0,9
	4,23	2,01	2,93	2,39	1,9	3,6	3,21	3,8	3,03	2,43
	10,0	9,13	5,8	6,05	3,73	10,0	4,67	3,18	3,88	1,82
	7,52	6,72	6,87	4,47	1,63	5,1	3,65	2,35	1,48	0,83
	7,18	7,38	5,5	2,1	1,52	8,0	7,35	3,33	2,63	0,68
	6,36	6,03	4,79	1,69	1,82	3,7	3,17	2,64	1,99	0,83
	2,64	1,63	0,82	0,82	1,23	2,6	1,39	1,29	0,24	0,0
	2,43	1,84	1,04	1,13	1,0	3,42	3,0	0,67	1,04	0,42
	3,15	3,95	4,45	1,78	1,75	4,1	2,3	0,73	0,85	0,68
	3,37	3,2	1,53	1,02	0,0	2,9	1,02	1,12	1,31	0,0
	6,25	6,0	4,75	1,88	1,25	6,5	6,0	5,75	1,5	1,5
	2,25	2,0	2,0	1,5	1,5	4,25	2,0	1,75	1,0	1,0
	3,92	3,5	1,85	1,17	0,0	3,33	2,18	1,42	1,33	1,02
	6,25	7,5	8,0	3,5	2,25	8,25	6,75	6,25	2,75	1,0

Tab. 58 : Teil 2, reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$; min^{-1})

$1/t_R$	Vaseline Nicotinsäurebenzylesterkonzentration (%)					Mikroemulsion Nicotinsäurebenzylesterkonzentration (%)				
Proband	3,0	2,0	1,0	0,25	0,063	4,0	2,0	1,0	0,5	0,25
39-54	0,2	0,25	0,181	0,105	0,08	0,33	0,154	0,166	0,1	0,053
	0,143	0,133	0,143	0,145	0,073	0,25	0,222	0,222	0,118	0,065
	0,25	0,222	0,2	0,16	0,083	0,211	0,25	0,222	0,167	0,103
	0,007	0,182	0,143	0,19	0,087	0,109	0,105	0,105	0,087	0,071
	0,174	0,16	0,083	0,111	0,091	0,222	0,154	0,125	0,148	0,083
	0,083	0,071	0,1	0,054	0,038	0,105	0,074	0,077	0,057	0,026
	0,118	0,095	0,1	0,083	0,057	0,087	0,133	0,077	0,057	0,026
	0,125	0,105	0,087	0,071	0,042	0,133	0,091	0,069	0,05	0,029
	0,121	0,148	0,118	0,093	0,091	0,129	0,103	0,087	0,059	0,0
	0,1	0,069	0,071	0,056	0,049	0,083	0,077	0,045	0,056	0,045
	0,042	0,047	0,049	0,035	0,054	0,059	0,043	0,03	0,025	0,0
	0,087	0,077	0,071	0,05	0,0	0,143	0,087	0,071	0,071	0,063
	0,074	0,071	0,069	0,044	0,0	0,118	0,051	0,047	0,067	0,0
	0,154	0,157	0,133	0,083	0,069	0,13	0,11	0,11	0,08	0,077
	0,222	0,21	0,16	0,11	0,093	0,222	0,18	0,16	0,108	0,069
	0,167	0,111	0,083	0,037	0,063	0,069	0,111	0,125	0,08	0,042

In Tab. 59 und 60 sind die Meßwerte für alle Meßparameter aufgetragen. Die entsprechenden Konzentrationen 0,063 und 1% aus den Konzentrationsreihen mit 5 Probanden (2.1.1) werden in den Wirksamkeitsvergleich miteinbezogen.

2.2.2 1-Punkt-Test

Mit dem Latenzzeittest und zum Teil auch mit der Dauer der Rötung werden 11 Zubereitungen bei einer Nicotinsäurebenzylesterkonzentration von 0,125% an 28 - 58 Versuchspersonen getestet: Vaseline, Polysynlansalbe, Wollwachsalkoholsalbe, wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, hydrophile Salbe, wasserhaltige hydrophile Salbe, Mikroemulsion, Polyacrylatgel, Salhumin Gel, Polyethylenglykolsalbe und wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe. Jede Versuchsperson testet insgesamt 10 Salben, jede Salbe wird zweimal geprüft (angegebene Werte sind Mittelwerte aus 2 Versuchen; Tab. 61 und 62).

2.2.3 1-Punkt-Test unter Okklusivbedingungen

Alle in 2.2.2 aufgeführten Salben mit Ausnahme von hydrophiler Salbe und Salhumin Gel werden mit 0,5% Nicotinsäurebenzylester an 20 Versuchspersonen mit dem Latenzzeittest unter Okklusivbedingungen auf ihre Wirksamkeit geprüft. Entsprechend dem von Barret (7) beschriebenen Verfahren werden 10 mg Salbe auf eine Fläche von 0,7 cm^2 aufgetragen und mit einer Plastikfolie abgedeckt. Einzelmeßwerte siehe Tab. 63.

Tab. 59: Meßwerte aus dem Blocktest mit 9 bzw. 10 Versuchspersonen
0,063% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (VAS), wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe (WALK), Polyethylenglykolsalbe (PEG), Polyacrylatgel (PA) und Salhumin Gel (SALHU)

Proband 55 - 67

Meßparameter	0,063% Salbengrundlagen				
	VAS	WALK	PEG	PA	SALHU
$1/t_R(min^{-1})$	0,04	0,05	0,0	0,05	0,067
	0,029	0,0	0,0	0,029	0,029
	0,0	0,033	0,0	0,0	0,05
	0,056	0,071	0,0	0,048	0,063
	0,4	0,222	0,0	0,167	0,083
	0,143	0,083	0,0	0,091	0,077
	0,056	0,067	0,0	0,1	0,125
	0,039	0,133	0,0	0,087	0,105
	0,067	0,1	0,125	0,067	0,056
	0,054	-	-	0,096	-
	0,093	0,147	-	-	-
	0,055	-	-	-	0,066
	0,044	-	0,0	-	-
D_R(Std.)	2,0	0,6	0,0	24,0	5,0
	1,3	0,0	0,0	1,3	2,0
	0,0	2,0	0,0	0,0	3,0
	2,25	1,5	0,0	2,0	2,5
	4,0	2,5	0,0	1,5	3,5
	1,7	1,5	0,0	2,25	2,0
	2,0	1,0	0,0	6,0	9,0
	1,0	3,5	0,0	0,0	3,5
	1,16	1,33	1,0	2,0	1,66
	2,5	-	-	4,16	-
	1,83	3,83	-	-	-
	1,67	-	-	-	2,75
	2,67	-	0,0	-	-
F_R (%)	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	105,4	5,79	0,0	37,5	41,09
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,0	-	-	1,0	-
	0,0	0,0	-	-	-
	1,87	-	-	-	0,0
	0,0	-	0,0	-	-

Tab. 59 : Teil 2, Meßwerte aus dem Blocktest mit 9 bzw. 10 Versuchspersonen

0,063%

Meßparameter	Salbengrundlage				
	VAS	WALK	PEG	PA	SALHU
Tmax(^{o}C)	0,0	0,0	0,0	1,3	1,4
	0,7	0,6	0,0	0,15	0,0
	0,5	0,0	0,0	0,4	0,0
	0,5	1,0	0,6	0,3	0,65
	2,1	0,8	0,0	2,35	1,1
	2,0	0,25	0,3	1,5	0,6
	0,55	1,3	0,2	0,4	1,1
	0,25	1,6	0,5	1,4	0,25
	0,75	1,4	0,3	1,0	0,3
	0,47	-	-	0,83	-
	1,28	0,8	-	-	-
	0,82	-	-	-	1,38
	0,67	-	0,0	-	-
$1/t_{Tmax}$ (min^{-1})	-	-	-	0,019	0,022
	0,026	0,013	-	0,167	-
	0,200	-	-	0,01	-
	0,029	0,05	0,200	0,067	0,022
	0,02	0,029	-	0,025	0,045
	0,025	0,029	0,017	0,027	0,022
	0,200	0,038	0,017	0,022	0,024
	0,200	0,032	0,028	0,022	0,017
	0,025	0,036	0,017	0,033	0,029
	0,033	-	-	0,021	-
	0,027	0,027	-	-	-
	0,02	-	-	-	0,019
	0,02	-	-	-	-
D_T (min)	0,0	0,0	0,0	96,0	85,0
	81,0	140,0	0,0	8,0	0,0
	75,0	0,0	0,0	100,0	0,0
	65,0	77,0	40,0	30,0	80,0
	80,0	44,0	0,0	103,0	75,0
	122,0	15,0	70,0	56,0	86,0
	80,0	80,0	29,0	35,0	87,0
	17,0	60,0	60,0	105,0	53,0
	95,0	66,0	76,0	72,0	83,0
	47,0	-	-	65,0	-
	71,0	64,0	-	-	-
	61,0	-	-	-	90,0
	47,0	-	0,0	-	-
F/T (cm^2)+)	0,0	0,0	0,0	25,16	10,65
	12,82	17,31	0,0	0,48	0,0
	8,25	0,0	0,0	6,96	0,0
	7,51	11,83	6,2	3,8	13,1
	42,28	7,2	0,0	48,61	17,06
	43,73	0,9	3,93	17,03	9,55
	10,27	18,63	1,5	3,64	20,16
	1,07	19,69	4,74	29,28	3,08
	11,84	19,27	5,58	14,76	4,74
	7,6	-	-	13,43	-
	21,4	11,0	-	-	-
	15,69	-	-	-	30,99
	10,12	-	0,0	-	-

+) 1 cm^2 = 0,4 ^{o}C · min

Tab. 60: Meßwerte aus dem Blocktest mit 9 bzw. 10 Versuchspersonen
1% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (VAS), wasserhaltiger Wollwachsalkoholsalbe (WALK), Polyethylenglykolsalbe (PEG), Polyacrylatgel (PA) und Salhumin Gel (SALHU)
Proband 55 - 67

Meßparameter	1% Salbengrundlage				
	VAS	WALK	PEG	PA	SALHU
$1/t_R$ (min^{-1})	0,143	0,2	0,0	0,091	0,077
	0,111	0,0	0,0	0,083	0,067
	0,077	0,067	0,05	0,125	0,067
	0,083	0,1	0,056	0,1	0,167
	0,5	0,333	0,071	0,4	0,067
	0,2	0,333	0,067	0,4	0,25
	0,1	0,2	0,04	0,167	0,111
	0,118	0,222	0,0	0,154	0,08
	0,5	0,2	0,125	0,333	0,143
	0,139	-	-	0,148	-
	0,28	0,217	-	-	-
	0,25	-	-	-	0,091
	0,117	-	0,034	-	-
D_R(Std.)	12,0	24,0	0,0	12,0	12,0
	5,0	0,0	0,0	10,0	6,0
	12,0	7,5	3,5	12,0	12,0
	5,75	6,0	1,25	3,0	7,0
	3,0	12,0	6,5	3,0	1,75
	6,5	12,0	2,0	11,0	6,5
	12,0	15,0	3,0	24,0	10,0
	6,0	10,5	0,0	23,0	7,5
	3,25	3,5	4,0	2,5	3,5
	8,33	-	-	7,67	-
	12,33	8,0	-	-	-
	10,0	-	-	-	7,5
	7,0	-	2,67	-	-
F_R (%)	0,0	1,13	0,0	0,0	0,0
	34,03	0,0	0,0	8,92	0,0
	14,68	7,5	0,0	9,36	9,91
	39,37	89,59	0,0	2,26	15,4
	148,27	80,91	47,81	140,4	45,61
	43,42	59,17	0,0	21,16	1,13
	57,65	39,0	0,0	0,0	22,02
	33,12	26,81	0,0	52,16	2,29
	64,01	12,04	0,0	8,32	0,0
	47,0	-	-	98,67	-
	29,89	36,55	-	-	-
	94,0	-	-	-	13,84
	17,25	-	0,0	-	-

Tab. 60: Teil 2, Meßwerte aus dem Blocktest mit 9 bzw. 10 Versuchspersonen

Meßparameter	1% Salbengrundlage				
	VAS	WALK	PEG	PA	SALHU
Tmax(°C)	1,6	1,2	0,0	0,0	0,9
	1,25	0,45	0,8	1,0	0,0
	1,7	1,5	0,45	0,9	0,25
	2,05	1,9	0,0	1,3	1,0
	1,85	2,75	0,5	1,05	1,5
	2,2	2,3	0,3	1,9	1,9
	1,7	2,0	0,25	1,6	0,8
	1,6	2,0	0,6	1,45	0,55
	1,4	0,9	0,9	2,2	0,5
	1,07	-	-	1,45	-
	1,35	1,63	-	-	-
	2,73	-	-	-	2,28
	1,55	-	0,23	-	-
$1/t_{Tmax}$ (min^{-1})	0,014	0,033	-	-	0,020
	0,022	0,048	0,050	0,040	-
	0,01	0,014	0,017	0,040	0,033
	0,033	0,018	-	0,032	0,033
	0,045	0,020	0,018	0,050	0,020
	0,020	0,033	0,025	0,029	0,018
	0,022	0,024	0,333	0,020	0,063
	0,038	0,022	0,100	0,020	0,167
	0,025	0,025	0,018	0,022	0,029
	0,021	-	-	0,023	-
	0,019	0,028	-	-	-
	0,02	-	-	-	0,019
	0,019	-	0,026	-	-
D_T(min)	99,0	110,0	0,0	0,0	105,0
	61,0	33,0	130,0	87,0	0,0
	86,0	135,0	100,0	80,0	47,0
	120,0	100,0	0,0	133,0	46,0
	117,0	120,0	105,0	115,0	127,0
	86,0	88,0	5,0	110,0	98,0
	80,0	78,0	14,0	95,0	48,0
	93,0	81,0	26,0	92,0	70,0
	80,0	74,0	84,0	128,0	42,0
	77,0	-	-	104,0	-
	98,0	100,0	-	-	-
	118,0	-	-	-	111,0
	92,0	-	40,0	-	-
F/T (cm^2) +)	34,61	31,33	0,0	0,0	24,52
	20,81	3,42	24,7	17,64	0,0
	27,65	35,53	8,73	7,06	2,92
	55,82	45,34	0,0	33,4	10,8
	44,54	64,73	13,29	24,74	35,05
	48,8	50,67	0,29	38,94	43,62
	33,97	38,15	0,59	34,45	7,81
	35,81	39,0	2,22	25,38	6,17
	28,62	12,92	10,77	57,32	4,76
	24,4	-	-	31,97	-
	33,78	38,9	-	-	-
	69,09	-	-	-	54,17
	33,63	-	2,15	-	-

+) 1 cm^2 = 0,4 ° C · min

Tab. 61: Reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$; min^{-1})
Mittelwerte aus 2 Versuchen
28 bzw. 58 Versuchspersonen
0,125% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (VAS), Wachssalbe (KS), Wollwachsalkoholsalbe (ALK), wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (WALK), hydrophile Salbe (HS), wasserhaltige hydrophile Salbe (WHS), Mikroemulsion (ME), Polyacrylatgel (PA), Salhumin Gel (SALHU), Polyethylenglykolsalbe (PEG)

Proband 68-95	VAS	KS	ALK	WALK	HS	WHS	ME	PA	SALHU	PEG
	0,063	0,0	0,045	0,077	0,085	0,076	0,0	0,044	0,062	0,0
	0,061	0,0	0,056	0,074	0,052	0,081	0,0	0,079	0,057	0,0
	0,041	0,034	0,038	0,091	0,041	0,120	0,0	0,084	0,13	0,0
	0,052	0,0	0,036	0,097	0,016	0,107	0,0	0,077	0,067	0,0
	0,06	0,0	0,032	0,056	0,034	0,079	0,0	0,043	0,055	0,0
	0,068	0,0	0,059	0,092	0,085	0,094	0,0	0,08	0,081	0,0
	0,058	0,041	0,053	0,122	0,048	0,134	0,0	0,061	0,059	0,0
	0,134	0,081	0,113	0,2	0,127	0,2	0,0	0,25	0,225	0,0
	0,111	0,094	0,125	0,225	0,25	0,183	0,0	0,167	0,196	0,0
	0,074	0,0	0,058	0,111	0,042	0,121	0,0	0,049	0,075	0,0
	0,052	0,0	0,04	0,061	0,036	0,073	0,0	0,037	0,049	0,0
	0,079	0,0	0,064	0,11	0,072	0,104	0,0	0,103	0,071	0,0
	0,074	0,02	0,062	0,087	0,052	0,108	0,0	0,099	0,073	0,0
	0,078	0,023	0,076	0,079	0,066	0,082	0,0	0,048	0,048	0,0
	0,115	0,058	0,084	0,175	0,16	0,134	0,014	0,141	0,152	0,008
	0,048	0,011	0,04	0,094	0,035	0,113	0,0	0,052	0,054	0,018
	0,145	0,068	0,136	0,204	0,141	0,194	0,0	0,158	0,178	0,0
	0,056	0,020	0,051	0,157	0,042	0,107	0,0	0,061	0,051	0,0
	0,196	0,087	0,133	0,35	0,124	0,292	0,183	0,229	0,202	0,0
	0,089	0,079	0,069	0,163	0,093	0,211	0,093	0,184	0,125	0,0
	0,122	0,106	0,071	0,155	0,077	0,088	0,0	0,146	0,127	0,0
	0,155	0,075	0,163	0,208	0,113	0,183	0,0	0,292	0,208	0,0
	0,069	0,054	0,087	0,125	0,09	0,127	0,0	0,136	0,174	0,0
	0,212	0,095	0,108	0,163	0,117	0,196	0,056	0,177	0,15	0,0
	0,07	0,245	0,105	0,162	0,084	0,143	0,167	0,091	0,163	0,091
	0,048	0,0	0,056	0,113	0,063	0,098	0,0	0,127	0,095	0,0
	0,059	0,222	0,066	0,106	0,057	0,121	0,0	0,069	0,086	0,0
	0,073	0,066	0,061	0,108	0,106	0,191	0,0	0,087	0,144	0,0

Tab. 61: Teil 2, reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$; min^{-1})
Mittelwerte aus 2 Versuchen
0,125% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (VAS), Polysynlansalbe (PS), Wachssalbe (KS), wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (WALK), hydrophile Salbe (HS), wasserhaltige hydrophile Salbe (WHS), Mikroemulsion (ME), Polyacrylatgel (PA), Polyethylenglykolsalbe (PEG), wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe (PEGW)

Proband 96-125	VAS	PS	KS	WALK	HS	WHS	ME	PA	PEG	PEGW
	0,146	0,153	0,112	0,139	0,127	0,18	0,163	0,18	0,098	0,048
	0,108	0,144	0,111	0,137	0,208	0,166	0,133	0,159	0,103	0,047
	0,093	0,124	0,073	0,133	0,108	0,13	0,141	0,143	0,064	0,048
	0,117	0,083	0,069	0,136	0,077	0,163	0,0	0,143	0,0	0,0
	0,125	0,118	0,154	0,143	0,089	0,467	0,0	0,328	0,0	0,0
	0,09	0,102	0,041	0,125	0,046	0,142	0,0	0,088	0,0	0,0
	0,076	0,0	0,0	0,104	0,048	0,103	0,0	0,075	0,0	0,0
	0,065	0,09	0,038	0,104	0,052	0,063	0,014	0,067	0,133	0,0
	0,078	0,035	0,0	0,107	0,042	0,121	0,065	0,03	0,0	0,0
	0,082	0,04	0,0	0,078	0,021	0,114	0,0	0,048	0,0	0,0
	0,087	0,073	0,022	0,146	0,066	0,121	0,0	0,054	0,0	0,0
	0,183	0,096	0,104	0,225	0,139	0,25	0,0	0,183	0,0	0,0
	0,086	0,101	0,046	0,106	0,083	0,145	0,23	0,092	0,0	0,0
	0,097	0,067	0,053	0,104	0,073	0,139	0,0	0,06	0,0	0,0
	0,061	0,054	0,02	0,088	0,066	0,092	0,013	0,083	0,0	0,0
	0,14	0,111	0,114	0,105	0,112	0,158	0,049	0,294	0,067	0,042
	0,094	0,134	0,072	0,169	0,106	0,176	0,044	0,151	0,03	0,037
	0,094	0,155	0,063	0,122	0,153	0,166	0,059	0,172	0,023	0,048
	0,113	0,081	0,053	0,141	0,071	0,127	0,039	0,136	0,039	0,02
	0,069	0,076	0,073	0,053	0,076	0,138	0,036	0,13	0,227	0,094
	0,134	0,13	0,094	0,167	0,183	0,139	0,045	0,171	0,046	0,012
	0,073	0,368	0,061	0,111	0,042	0,143	0,045	0,129	0,187	0,5
	0,048	0,05	0,019	0,151	0,073	0,0	0,074	0,0	0,0	0,0
	0,25	0,222	0,171	0,267	0,139	0,25	0,05	0,292	0,0	0,0
	0,117	0,079	0,058	0,139	0,094	0,134	0,051	0,155	0,0	0,01
	0,163	0,113	0,0	0,375	0,091	0,225	0,0	0,25	0,0	0,0
	0,092	0,107	0,06	0,12	0,084	0,084	0,036	0,139	0,0	0,056
	0,042	0,0	0,0	0,038	0,014	0,0	0,0	0,063	0,0	0,0
	0,049	0,046	0,0	0,088	0,04	0,103	0,0	0,093	0,0	0,0
	0,049	0,0	0,0	0,065	0,04	0,058	0,0	0,054	0,0	0,0

Tab. 62 : Dauer der Rötung (D_R; Std.), Mittelwerte aus 2 Versuchen, 28 Versuchspersonen
0,125% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (VAS), Wachssalbe (KS), Wollwachs-
alkoholsalbe (ALK), wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (WALK), hydrophile Salbe
(HS), wasserhaltige hydrophile Salbe (WHS), Mikroemulsion (ME), Polyacrylatgel (PA),
Salhumin Gel (SALHU), Polyethylenglykolsalbe (PEG)

Proband 68-95	VAS	KS	ALK	WALK	HS	WHS	ME	PA	SALHU	PEG
	1,5	0,0	1,5	7,3	1,5	5,5	0,0	9,3	9,25	0,0
	4,55	0,0	1,96	3,45	2,07	2,12	0,0	4,9	5,33	0,0
	1,29	0,63	0,8	1,0	0,93	1,21	0,0	1,42	1,55	0,0
	1,43	0,0	1,02	1,25	0,61	1,27	0,0	1,48	1,52	0,0
	1,15	0,0	0,92	0,76	1,03	1,21	0,0	1,24	1,08	0,0
	1,53	0,0	1,42	1,32	1,75	1,07	0,0	1,58	1,82	0,0
	2,0	1,15	1,6	2,17	1,65	1,9	0,0	2,28	1,98	0,0
	4,75	2,5	2,75	3,0	1,5	4,0	0,0	8,75	8,25	0,0
	5,25	2,0	1,5	7,25	1,75	4,25	0,0	6,25	6,5	0,0
	1,38	0,0	1,03	1,17	0,93	1,45	0,0	1,25	1,48	0,0
	1,69	0,0	1,15	1,18	1,19	1,56	0,0	2,1	2,1	0,0
	1,92	0,0	1,64	1,72	1,65	1,45	0,0	2,33	2,87	0,0
	1,92	0,0	1,47	1,53	1,67	1,4	0,0	2,43	2,91	0,0
	4,75	0,25	3,25	6,6	3,25	6,75	0,0	6,25	6,75	0,0
	1,8	0,2	1,4	2,65	0,95	1,65	0,0	5,15	4,6	0,2
	2,85	1,25	3,45	2,13	3,07	4,17	0,0	8,13	8,13	0,0
	3,88	1,88	3,9	2,88	2,4	4,2	1,55	3,51	3,13	0,0
	12,75	4,5	8,5	8,75	6,25	4,5	3,5	4,25	12,0	0,0
	1,87	1,37	3,7	1,7	1,68	1,13	0,0	4,02	3,97	0,0
	1,68	1,7	3,07	1,37	1,77	2,18	0,0	3,63	5,07	0,0
	1,5	0,75	1,75	1,5	1,75	1,0	0,0	3,25	4,25	0,0
	4,29	1,28	2,17	2,16	1,56	2,0	0,04	7,0	2,42	0,0
	1,4	1,12	1,22	1,35	1,39	1,37	0,05	2,07	1,59	0,13
	1,76	0,0	1,69	1,63	1,09	1,18	0,0	2,13	2,29	0,0
	4,18	0,77	4,03	5,92	1,59	5,05	0,0	6,93	6,4	0,0
	3,35	1,5	1,75	2,13	2,0	4,0	0,0	3,25	4,0	0,0
	2,0	1,0	1,0	1,0	1,5	1,5	0,5	3,0	3,5	0,5
	2,25	0,25	1,53	3,05	1,5	1,55	0,0	1,88	2,5	0,0

Tab. 63: Reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$; min^{-1}) unter Okklusivbedingungen
Einzelmeßwerte, 20 Versuchspersonen
0,5% Nicotinsäurebenzylester in Vaseline (VAS), Wachssalbe (KS), Wollwachsalkoholsalbe (ALK), wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe (WALK), wasserhaltige hydrophile Salbe (WHS), Mikroemulsion (ME), Polyacrylatgel (PA), Polyethylenglykolsalbe (PEG), wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe (PEGW)

Proband 126-145	VAS	KS	ALK	WALK	WHS
	0,167	0,143	0,182	0,250	0,250
	0,143	0,125	0,100	0,182	0,200
	0,118	0,074	0,105	0,143	0,182
	0,133	0,069	0,133	0,143	0,190
	0,118	0,118	0,121	0,160	0,190
	0,235	0,154	0,267	0,286	0,286
	0,235	0,118	0,138	0,235	0,250
	0,093	0,071	0,105	0,129	0,167
	0,111	0,095	0,103	0,143	0,174
	0,129	0,074	0,235	0,222	0,182
	0,138	0,125	0,154	0,167	0,211
	0,286	0,222	0,308	0,333	0,333
	0,108	0,075	0,095	0,190	0,222
	0,154	0,091	0,129	0,108	0,167
	0,154	0,143	0,160	0,190	0,211
	0,138	0,118	0,143	0,211	0,235
	0,167	0,182	0,160	0,222	0,222
	0,060	0,047	0,041	0,051	0,080
	0,125	0,100	0,125	0,182	0,222
	0,200	0,125	0,167	0,286	0,333

Tab. 63: Teil 2, reziproker Wert der Latenzzeit ($1/t_R$; min^{-1}) unter Okklusivbedingungen

Proband 126-145	ME	PA	PEG	PEGW
	0,286	0,333	0,125	0,167
	0,250	0,222	0,069	0,077
	0,190	0,235	0,057	0,070
	0,121	0,222	0,053	0,067
	0,167	0,235	0,067	0,070
	0,267	0,286	0,111	0,167
	0,182	0,250	0,063	0,121
	0,167	0,154	0,063	0,111
	0,143	0,167	0,039	0,074
	0,150	0,250	0,056	0,114
	0,200	0,250	0,160	0,093
	0,250	0,400	0,143	0,200
	0,174	0,250	0,051	0,134
	0,129	0,364	0,073	0,083
	0,200	0,286	0,083	0,118
	0,174	0,267	0,046	0,089
	0,167	0,182	0,103	0,111
	0,060	0,049	0,031	0,057
	0,200	0,250	0,061	0,095
	0,286	0,400	0,080	0,111

II. Verfahren zur Charakterisierung der Salben

1. In-vitro-Methoden

1.1 Bestimmung der physikalischen Eigenschaften der Grundlagen

1.1.1 Tropfpunkt und Erstarrungspunkt

Die Bestimmung des Tropfpunktes sowie des Erstarrungspunktes am rotierenden Thermometer erfolgt nach der Vorschrift des DAB 8 an den ungescherten Salbengrundlagen. Die Proben werden vor Versuchsbeginn 24 Std. bei 20 $\pm$ 1°C gelagert.

1.1.2 Grenzflächenverhalten

Oberflächenspannung

Die Bestimmung der Oberflächenspannung (σ) der flüssigen Anteile der Salbengrundlagen erfolgen am Interfacialtensiometer nach Lecompte Du Noüy, Typ K 8551 (A. Krüss, Hamburg).

Spreitung der Grundlagen

Bei konstanter Versuchstemperatur von 32 $\pm$ 1°C werden jeweils 6 Proben jeder Grundlage (0,012 cm^3; 5,5 mm Ausgangsdurchmesser) mit einer Schablone kreisförmig auf Glas bzw. Polytetrafluorethylenplatten aufgetragen. Nach 90 Minuten wird der Durchmesser des Salbenflecks bestimmt (Tab. 64 und 65 bzw. Abb. 55).

Tab. 64: Spreitung der Grundlagen auf Polytetrafluorethylen (glatte Oberfläche)
Durchmesser (d, mm) der kreisförmig aufgetragenen Grundlage nach 90 Minuten
Versuchstemperatur 32 ± 1°C

Versuch	1	2	3	4	5	6	$\bar{d}$	± s
Salbengrundlage								
VAS	5,6	5,6	5,5	5,7	5,6	5,5	5,58	0,08
PS	9,0	8,7	7,6	9,0	8,9	8,8	8,67	0,54
KS	7,0	6,9	7,0	6,9	6,9	7,1	6,97	0,08
ALK	6,2	6,4	6,0	6,8	6,3	6,2	6,32	0,27
HS	5,6	5,5	5,5	5,5	5,6	5,5	5,53	0,05
WALK	5,5	5,5	5,5	5,6	5,6	5,5	5,53	0,05
WHS	5,7	5,7	5,6	5,5	5,5	5,6	5,60	0,09
ME	5,6	5,7	5,5	5,8	5,5	5,6	5,62	0,12
PA	6,1	6,0	5,9	5,9	6,3	6,2	6,07	0,10
PEG	5,5	5,6	5,5	5,6	5,5	5,5	5,53	0,05
PEGW	5,8	5,7	5,7	5,7	5,5	5,5	5,65	0,12

Tab. 65: Spreitung der Grundlagen auf Glas (glatte Oberfläche)
Durchmesser (d, mm) der kreisförmig aufgetragenen Grundlage nach 90 Minuten
Versuchstemperatur 32 ± 1°C

Versuch	1	2	3	4	5	6	$\bar{d}$	± s
Salbengrund-lage								
VAS	6,0	5,7	5,6	5,5	5,6	5,7	5,68	0,17
PS	9,0	9,0	8,9	7,9	8,2	7,9	8,48	0,54
KS	6,2	6,0	5,8	5,8	5,6	5,7	5,85	0,22
ALK	5,6	5,5	5,5	5,6	5,6	5,6	5,57	0,05
HS	5,7	6,0	6,0	5,8	6,1	5,7	5,88	0,17
WALK	5,7	5,8	5,5	5,5	5,6	5,5	5,60	0,13
WHS	6,8	6,1	5,7	5,8	6,0	5,9	6,05	0,39
ME	6,9	7,4	7,2	7,3	6,7	7,0	7,08	0,26
PA	5,6	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7	5,68	0,04
PEG	5,5	5,5	5,6	5,6	5,5	5,5	5,53	0,05
PEGW	5,7	5,7	5,6	5,7	5,6	5,5	5,63	0,08

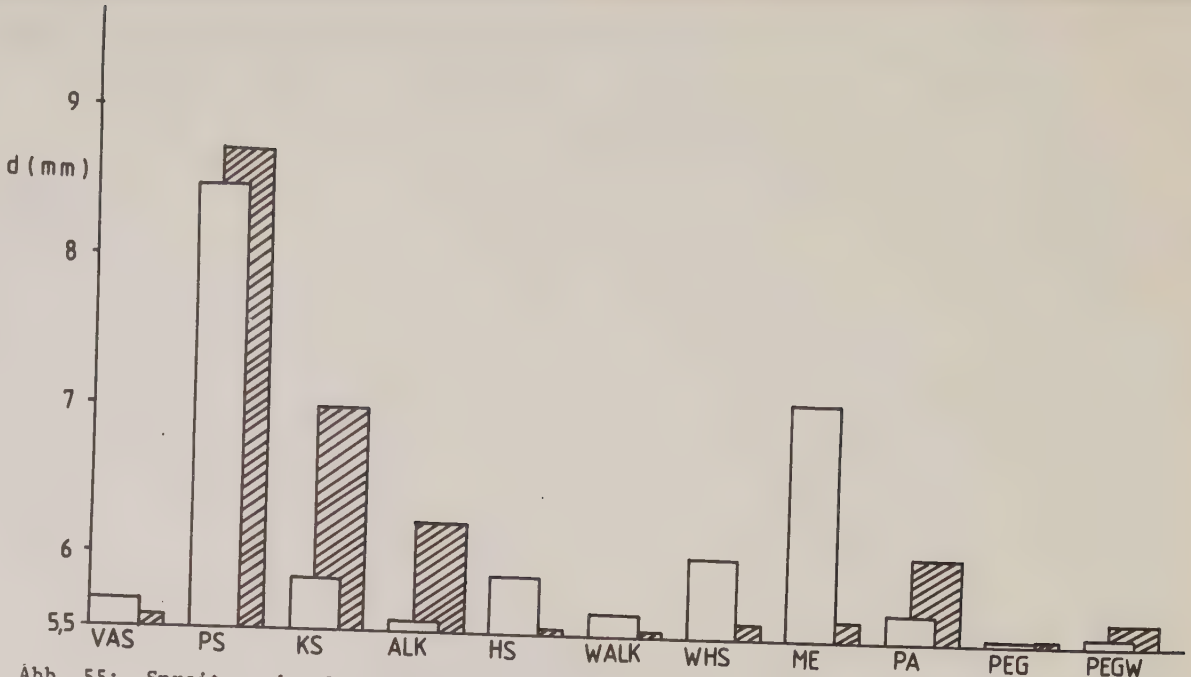


Abb. 55: Spreitung der Salbengrundlagen auf Glas bzw. Polytetrafluorethylen
Durchmesser der kreisförmig aufgetragenen Salben nach 90 Minuten
Versuchstemperatur 32 ± 1°C
Mittelwerte aus jeweils 6 Versuchen

Glas

Polytetrafluorethylen

1.1.3 Rheologisches Verhalten

Für Salben: Rotationsviskosimeter RV 2 mit Programmgeber PG 114, Platte-Kegel Meßsystem PK I in Verbindung mit Meßkopf MK 50 bzw. MK 500. Für die flüssigen Salbenbestandteile: Meßsystem MVP II mit Meßkopf MK 50 (Haake, Karlsruhe). Die Salben werden in ungeschertem Zustand bei 32 $\pm$ 1°C gemessen, Eintemperierungszeit 10 Minuten. Aufzeichnung der Rheogramme mit einer Drehfrequenzzunahme von 150 n/min. Für n = 256 und n = 512 (= Schergefälle D von 5013,2 und 10026,4 s^{-1}) wird die resultierende Schubspannung τ in Pa bzw. mPa ermittelt (τ = Skalenteile S · Faktor A). Die untersuchten Salben zeigen alle nicht-idealviskoses, plastisches Fließverhalten. Die Emulsionssalben wasserhaltige hydrophile Salbe und wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe sowie wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe können mit diesem System nicht gemessen werden, da der Salbenfilm abreißt (Gleitfließen). Für alle übrigen Salben werden die Quasiviskositätswerte angegeben (Tab. 66). Die Berechnung erfolgt entsprechend Gl. 24. Die flüssigen Salbenbestandteile werden mit dem Meßsystem MVP II (Searle-Prinzip) untersucht. Die flüssigen Komponenten der Salben zeigen alle idealviskoses Verhalten, hier wird die dynamische Viskosität ermittelt (Gl. 24; Tab. 66a).

Tab. 66: Fließverhalten der Salbengrundlagen bei 32 ± 1°C, Quasiviskosität

Rotationsviskosimeter RV 2 Haake
PG 114: Drehfrequenzzunahme 150 n/min
PK I, O, 3°
Gerätefaktoren: MK 500, A = 80,04(Pa/Skt.), M = 19,60 ($min \cdot s^{-1}$)
50, A = 7,60(Pa/Skt.), M = 19,70 ($min \cdot s^{-1}$)

Salbengrundlage		Skalenteile				$\bar{x}$	Meßkopf MK	Quasiviskosität η_Q (mPa · s)
VAS	n = 256	23,5	24,2	26,5	25,0	24,8	500	395,95
	n = 512	37,5	38,5	39,5	38,0	38,38		306,38
PS	n = 256	72,5	73,0	71,0		72,17	50	109,15
	n = 512	entfällt						
KS	n = 256	6,5	7,5	7,1		7,03	500	112,24
	n = 512	10,0	11,0	10,6		10,53		84,06
ALK	n = 256	7,5	7,0	7,3		7,27	500	116,07
	n = 512	13,0	12,0	11,5		12,71		97,15
HS	n = 256	13,5	12,4	11,1		12,30	500	196,38
	n = 512	17,5	16,9	16,0		16,80		134,11
ME	n = 256	33,0	30,5	32,5		32,0	500	510,91
	n = 512	35,5	33,5	34,5		34,5		275,41
PA	n = 256	22,0	22,0	22,5		22,17	500	353,96
	n = 512	38,5	38,0	39,5		38,67		308,70
PEG	n = 256	38,0	26,5	40,0		34,83	500	556,09
	n = 512	46,5	40,7	42,5		43,25		345,26

$$\eta = \frac{\tau}{D} = \frac{S \cdot A}{n \cdot M} \quad (Pa \cdot s) \quad (Gl.\ 24)$$

η = Viskosität (Pa·s bzw. mPa·s)

τ = Schubspannung (Pa bzw. mPa)

D = Schergefälle (s^{-1})

S = Skalenteile, RV 2

n = Umdrehungszahl RV 2

A = Gerätefaktor für die Schubspannung

M = Gerätefaktor für das Schergefälle

Tab. 66 a: Fließverhalten der flüssigen Salbenbestandteile bei 32 ± 1°C, dynamische Viskosität
Rotationsviskosimeter RV 2 Haake,
MVP II, MK 50, n = 256
Gerätefaktor A = 0,33 (Pa/Skt.)
M = 0,88 ($min \cdot s^{-1}$)

Substanz	Skalenteile				$\bar{x}$	η
Messung	1	2	3	4		(mPa·s)
Paraffin dickflüssig	60,0	57,8	57,5		58,43	85,36
Paraffin dünnflüssig	13,0	13,5	13,3		13,27	19,36
Isoparaffin	14,0	14,5	13,0	14,5	14,0	20,45
Erdnußöl	36,5	32,0	32,0	37,0	34,38	50,23
Mikroemulsion flüssige Phase	9,5	10,0	9,0		9,5	13,88
Polyacrylatgel flüssige Phase	6,0	6,5	6,0		6,16	9,0
Polyethylenglykol 400	40,0	39,0	42,0		40,33	58,92

1.1.4 Blutungszahl

Zur Bestimmung der Blutungszahl an den ungescherten Salbengrundlagen werden jeweils 2 Proben möglichst luftblasenfrei in Glasringe eingefüllt (6,5 mm Durchmesser, 5 mm Höhe) und mit diesem in die Mitte eines runden Filtrierpapieres (Schleicher und Schüll Nr. 595, 12,5 cm Ø) gesetzt und leicht angedrückt. Die so vorbereiteten Proben werden bei 32 ± 1°C 24 Std. im Brutschrank aufbewahrt. Danach wird der Durchmesser der Blutungszone bestimmt. Der gemessene Durchmesser in mm entspricht der Blutungszahl.

1.2 Sättigungslöslichkeiten

Bestimmung der Sättigungslöslichkeiten in den flüssigen Salbenbestandteilen:

In 100 ml Glasflaschen werden 40 ml der flüssigen Salbenbestandteile mit einem Überschuß an Nicotinsäurebenzylester versetzt und 48 Std. bei 20 ± 1°C geschüttelt. Die überstehende Flüssigkeit wird zentrifugiert, die Konzentrationsbestimmung erfolgt nach entsprechender Verdünnung (UV-spektralphotometrisch; DMR 10, Zeiss, Oberkochen, $\lambda_{max} H_2O$ = 263,4 nm).

Bestimmung der Sättigungslöslichkeiten in den Grundlagen:

0,5 g Grundlage werden in 100 ml Glasflaschen eingebracht und im Fall der lipophilen Systeme (Vaseline und Wachssalbe) mit 50 ml einer $1{,}8 \cdot 10^{-4}$ molaren wässrigen Nicotinsäurebenzylesterlösung versetzt. Nach 7,14 bzw. 19 Tagen bei einer konstanten Temperatur von 20 ± 1°C wird die Abnahme der Esterkonzentration

in der Wasserphase UV-spektralphotometrisch bestimmt. Ein Blindversuch mit 0,5 g Grundlage und 50,0 ml H_2O wird den gleichen Versuchsbedingungen unterworfen. Nach 14 Tagen ergeben sich konstante Meßwerte. Daraus wird der Verteilungskoeffizient zwischen Grundlage und flüssiger Phase ermittelt und damit entsprechend Gl. 17 die Sättigungslöslichkeit im Vehikel errechnet ($c_{s\ Grundlage} = VK_{Vehikel/H_2O} \cdot c_{s\ H_2O}$). Im Falle wasserlöslicher Vehikel (Polyethylenglykolsalbe) wird mit dünnflüssigem Paraffin als zweite Phase gearbeitet.

1.3 Experimenteller Verteilungskoeffizient Keratin/Vehikel

1.3.1 Keratin

Für die Verteilungsversuche wird Keratin (E. Merck, Darmstadt) eingesetzt, Siebfraktion: 0,1 mm < d < 0,315 mm. Keratin ist in Wasser und Ethanol unlöslich, nimmt jedoch bei 100% relativer Luftfeuchte (22°C) bis zu 12% Wasser auf. Der Trocknungsverlust des Keratins bei 105°C beträgt 5,5%. Für die Versuche wird es auf einen Wassergehalt von 10% eingestellt.

1.3.2 Versuchsdurchführung

Brutschrank 32 $\pm$ 1°C : In 100 ml Steilbrustflaschen werden 1 g Keratin mit 50 g bzw. 50 ml flüssigen Salbenbestandteilen mit jeweils 2 verschiedenen Nicotinsäurebenzylesterkonzentrationen versetzt (0,3 bzw. 3% und für H_2O 0,006 bzw. 0,06%). Der Ansatz wird an einem Schüttler 20 Stunden bewegt. Blindwert ist jeweils 1 g Keratin und 50 g bzw. 50 ml der esterfreien,

flüssigen Salbenbestandteile. Nach 20 Stunden wird zentrifugiert (15 min bei 5500 U/min) und in den überstehenden, flüssigen Salbenbestandteilen nach entsprechender Verdünnung die Nicotinsäurebenzylesterkonzentration UV-spektralphotometrisch bestimmt.

Es ergeben sich relative Standardabweichungen zwischen 0,67 und 3,36%. Lediglich für die Verteilung zwischen Wasser und Keratin mit 0,006% Nicotinsäurebenzylester resultiert eine relative Standardabweichung von 6,8%, da sich hier die Streuung der Blindwerte relativ stark auswirkt (jeweils 4 Versuchsansätze mit und ohne Ester).

Berechnung des experimentellen Verteilungskoeffizienten erfolgt nach Gl. 18:

$$VK_{exp.} = \frac{c_{Keratin}}{c_{Salbe}} = \frac{M_K \cdot V_S}{M_S \cdot V_K} = \frac{(M_{ges} - M_S) \cdot V_S}{M_S \cdot V_K}$$

M_K bzw. M_S sind die Mengen an Nicotinsäurebenzylester im Keratin und in der Salbe nach Gleichgewichtseinstellung (M_{ges} = Einwaage). Die Volumina V_S der Salbe und V_K des Keratins lassen sich über die entsprechenden Dichten ermitteln.
Die Dichte des Keratins wird durch Volumenverdrängung in einem geeichten Meßkölbchen bestimmt, 20 $\pm$ 1°C, 1 g Keratin entsprechen 0,74 ml (Dichte 1,36 g/cm^3, Mittelwert aus 2 Bestimmungen).

Tab. 67: Dichte der Salbengrundlagen bei 20 ± 1°C
nach DFG Einheitsmethode bestimmt (19)

Salbengrundlage	Dichte g
VAS +)	0,94
PS	0,82
KS	0,91
ALK +)	0,94
HS +)	0,94
WALK +)	0,97
WHS +)	0,98
ME	0,97
PA	0,92
PEG	1,12
PEGW	1,09

+) Literaturwerte (8)

1.4 Freisetzung von Nicotinsäurebenzylester

1.4.1 Freigabeapparaturen, Versuchsaufbau

Es wird einerseits die von Loth (62) entwickelte Sartorius-Freigabezelle eingesetzt. Sie ist einfach zu handhaben und für Freisetzungsversuche mit und ohne Membran geeignet. Eine kontinuierliche Aufzeichnung der freigegebenen Arzneistoffmengen ist möglich. Lipophile Arzneistoffe können allerdings vom Wandmaterial der Zelle (Plexiglas) sowie von Dichtungen und Schlauchverbindungen aus Silikon sorbiert werden. Dies ist bei der Wahl des Akzeptormediums zu berücksichtigen. Probleme ergeben sich auch bei der Verwendung nicht wässriger Akzeptormedien; so ist z.B. n-Heptan nicht mit den Silikonteilen der Apparatur verträglich.

Alternativ wird für die Freigabe ohne Membran eine einfache Becherglasmethode eingesetzt (Abb. 57b), dabei kann der Kontakt der Akzeptorflüssigkeit mit Kunststoffteilen verhindert werden.

1.4.2 Salben-Liberationszelle

Die Liberationszelle (Sartorius,Göttingen; Abb. 56) besteht aus einer Halteplatte mit einer Bohrung für ein Salbengefäß mit plangeschliffenem Rand von 50 mm Durchmesser und einer Höhe von 30 mm. Zum Ausgleich des Volumens wird auf dem Boden des Gefäßes eine 15 mm dicke Plexiglasscheibe gelegt und mit Alufolie abgedeckt. Die restliche Füllhöhe entspricht dann einer Salbenmenge von ca. 20 g. Die Membranen werden luftblasenfrei auf die Sal-

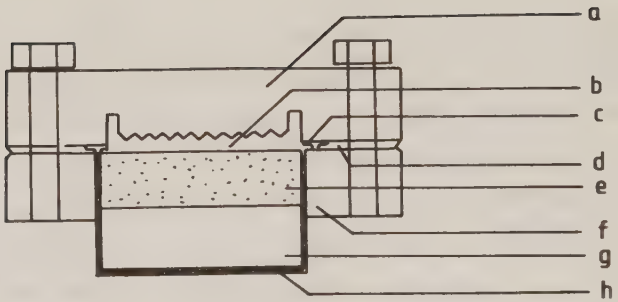


Abb. 56 : Sartorius- Salben-Liberationszelle, Querschnitt

a = Deckplatte
b = Membran
c = Dichtung
d = Zu- bzw. Abfluß
e = Salbe
f = Halteplatte
g = Plexiglasscheibe
h = Salbengefäß

benoberfläche aufgebracht: In eine zweite Plexiglasplatte werden die Dichtungen eingesetzt (1 mm), diese wird auf die Halteplatte mit Salbengefäß aufgeschraubt. In der Deckplatte befinden sich außerdem die Bohrungen für Zu- und Abfluß des Akzeptormediums. Im Bereich der aktiven Membranfläche (15,9 cm^2) sind in Strömungsrichtung Rillen ausgefräst um eine gleichmäßige Strömung des Akzeptormediums zu gewährleisten.

Bei der Becherglasmethode wird das oben beschriebene Salbengefäß (Kontaktfläche 15,9 cm^2) in das Akzeptormedium eingesetzt (Becherglas, 600 ml, enge Form). Dazu werden an Stelle der Plexiglasscheiben unterhalb der Salben Metallscheiben eingelegt.

1.4.3 Versuchsablauf

In Abb. 57 sind die Versuchsanordnungen dargestellt. Das Akzeptormedium wird aus dem Vorratsgefäß durch eine Schlauchpumpe (Minipuls 2, Gilson, Villers-le-Bel, Frankreich) mit einer Pumpgeschwindigkeit von 600 $\pm$ 50 ml/Std. [+)] über eine Durchflußzelle durch die Freigabezelle (das Salbengefäß befindet sich dabei an der Unterseite) und von dort zurück in das Vorratsgefäß gepumpt und gerührt. Vor Versuchsbeginn erfolgt Temperierung des gefüllten Salbengefäßes auf die Versuchstemperatur von 32°C (45 min).

+) Die Pumpgeschwindigkeit wird jeweils vor und nach Beendigung des Versuches überprüft.

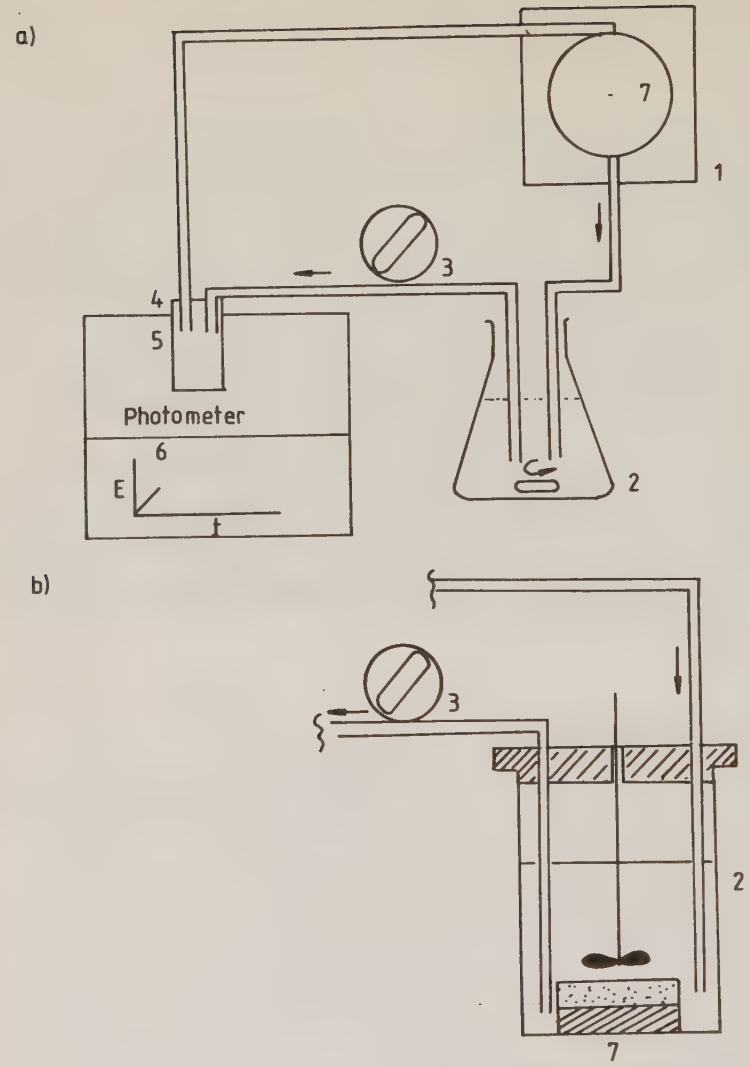


Abb. 57 : Versuchsanordnung zur Bestimmung der Freisetzung von Arzneistoffen aus Salben:

a) Salben-Liberationszelle
b) Becherglasmethode
1. Salben-Liberationszelle
2. Vorratsgefäß für Akzeptormedium, gerührt
3. Schlauchpumpe
4. Durchflußküvette
5. Photometer
6. Schreiber
7. Salbengefäß

Bei der Becherglasmethode entfällt die Freigabezelle. Auf den Umpumpkreislauf kann verzichtet werden, die Bestimmung der freigesetzten Mengen erfolgt dann diskontinuierlich. Die freigesetzte Arzneistoffmenge wird i.a. über einen Zeitraum von 4 bis maximal 12 Stunden registriert. Im Falle der Freisetzung des Esters aus Polyacrylatgel ohne Membran (Akzeptorflüssigkeit n-Heptan) wird diskontinuierlich gemessen, alle 5 Minuten bis 30 Minuten, danach alle 10 Minuten bis 80 Minuten.

Für Freisetzungsversuche aus wässriger Lösung findet ebenfalls die Sartoriusfreigabezelle Einsatz. Das Salbengefäß wird mit 25 ml einer $1{,}8 \cdot 10^{-3}$ molaren Nicotinsäurebenzylesterlösung beschickt, die Freigabezelle aber um 180° gedreht, so daß die Esterlösung direkt mit der Membran in Kontakt kommt. Der weitere Versuchsablauf ist der gleiche wie bei den Salben. Die Meßwerte dieser Versuchsreihe sind in Abb. 58 entsprechend Gl. 22 aufgetragen.

Die Bestimmung des Esters erfolgt UV-spektralphotometrisch (UV-Spektralphotometer DMR 10 Zeiss, Oberkochen; λ_{max} 0,1 N HCl = 261,4 nm).

1.4.4 Auswahl der Akzeptormedien

Für die Freigabeversuche mit Membran werden zur Gewährleistung von "sink"-Bedingungen 250 ml 0,1 N HCl als Akzeptorflüssigkeit eingesetzt, ebenso für die Freigabe ohne Membran aus lipophilen Grundlagen. Es kommt dabei zu keiner meßbaren Sorption von Nicotinsäurebenzylester an Plexiglas bzw. Silikon-

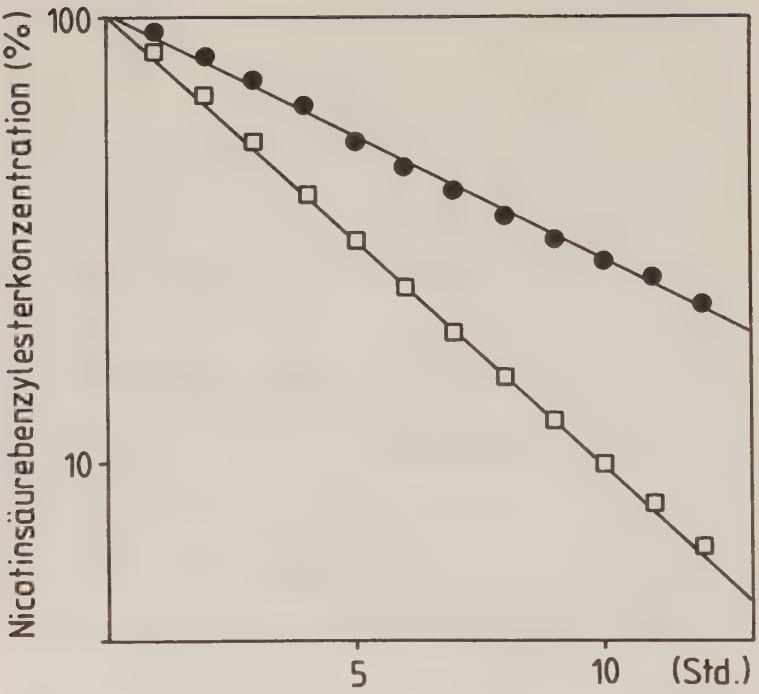


Abb. 58: Abnahme von Nicotinsäurebenzylester im Salbenkompartiment als Funktion der Zeit entsprechend Gl. 22
Mittelwerte aus 3 Versuchen
● Silikonmembran 0,254 mm
□ Silikonmembran 0,127 mm
$c_{I_0} = 1{,}84 \cdot 10^{-3}$ Mol/l

teile der Freigabeapparatur.

Die Stabilität des Esters bei 32°C über 48 Stunden wird polarographisch überprüft. Dieses Verfahren eignet sich zur Stabilitätsbestimmung, da oberhalb pH 9,7 nur die Nicotinsäureester eine Stufe ergeben (58). Dazu werden die Wechselstrom-Polarogramme der $1{,}5 \cdot 10^{-3}$ molaren Esterlösungen von pH 1 (0,1 N HCl) und pH 2 (HCl/KCl) sofort nach Herstellung der Lösungen und nach 48 Stunden aufgezeichnet. Die Lösungen werden 1 : 10 mit Boratpuffer pH 10 verdünnt und nach Begasung mit Stickstoff gemessen. Anfangsspannung 1 V, ges. Ag/AgCl Elektrode, Spannungsbereich : - 2 V, Empfindlichkeit $1{,}5 \cdot 10^{-8}$ A/mm.

Nach 48 Stunden ergeben sich identische Polarogramme; der Nicotinsäurebenzylester ist somit über den untersuchten Zeitraum stabil.

1.4.5 Vorbereitung der Salben

Die nicotinsäurebenzylesterhaltigen Salben (1% g/g) werden frisch hergestellt, vor Versuchsbeginn 3 Tage gelagert und danach innerhalb von 14 Tagen für die Freisetzungsuntersuchungen verwendet. Vor Versuchsbeginn werden die Salben ohne zusätzliche Scherung möglichst luftblasenfrei in das Salbengefäß eingefüllt.

1.4.6 Membranen

Zur Trennung der Salben vom Akzeptormedium werden Dimethylpolysiloxan Membranen (SILASTIC Silikonfolie, Dow Corning Corp., Brüssel, Belgien) eingesetzt. Die Stärke der Membranen beträgt 0,127 bzw. 0,254 mm. Die Membranen enthalten nach Angaben des Herstellers bis zu 35% kolloidale Kieselsäure als Füllstoff.

Vorbehandlung der Membranen

Die Membranen werden zunächst auf eine Fläche von 48 cm^2 zugeschnitten (Kontaktfläche zur Akzeptorflüssigkeit 15,9 cm^2), danach mehrmals mit heißem Wasser gewaschen und mit heißem destilliertem Wasser nachgespült und vor Versuchsbeginn 24 Std. in destilliertem Wasser gelagert.

Überprüfung der Membranen

Zur Überprüfung der Abgabe von UV-aktiven Bestandteilen werden 0,5 g Silikon Membran in 100 ml 0,1 N HCl 24 Stunden bei 22 $\pm$ 1°C geschüttelt. Danach ergibt sich bei 261,4 nm eine Extinktion von nur 0,022 (1 cm Quarz Küvetten) bei einer den Freigabebedingungen entsprechenden Verdünnung. Zusätzlich werden in das Salbengefäß 25 ml H_2O eingefüllt und das Gefäß vom Akzeptormedium (0,1 N HCl) durch eine 0,127 mm dicke Silikonmembran getrennt, die Freigabeapparatur wird unter den in 1.4.3 angegebenen Versuchsbedingungen 12 Stunden betrieben. Dabei zeigt sich bei 261,4 nm keine meßbare Extinktion.

Durchlässigkeit der Membranen für Ionen und H_2O

Das im zuvor beschriebenen Blindversuch eingesetzte Volumen des

Wassers wird nach 12 Stunden überprüft. Außerdem erfolgt Überprüfung des pH-Wertes sowie der Leitfähigkeit im Salbenkompartiment.

Durchlässigkeit der Membranen für Salbenbestandteile

Die Durchlässigkeit der Silikonmembranen für UV-aktive Salbenbestandteile wird für jede Grundlage in einem Blindversuch überprüft. Dabei erfolgt Trennung der jeweiligen esterfreien Salbengrundlagen vom Akzeptormedium durch eine Silikonmembran (0,127 mm dick); Versuchsbedingungen wie bei nicotinsäurebenzylesterhaltigen Salben. Im Falle der Polyethylenglykolsalben wird auch mit Dragendorffs-Reagens geprüft.

Verteilungskoeffizient Membran/H_2O

0,5 g Silikonmembran entsprechend einem Volumen von 0,36 cm^3 werden in 50 ml einer $1{,}8 \cdot 10^{-3}$ bzw. $1{,}8 \cdot 10^{-4}$ molaren wässrigen Nicotinsäurebenzylesterlösung 48 Stunden bei $32 \pm 1^{\circ}C$ geschüttelt; Messung der Konzentrationsabnahme von Nicotinsäurebenzylester UV-spektralphotometrisch. Die Berechnung des Verteilungskoeffizienten erfolgt nach Gl. 17.

2. In-vivo-Methoden

2.1 Spreitung

An 5 Probanden im Alter von 25 bis 32 Jahren werden jeweils 2 Salbenproben der wirkstofffreien Grundlagen getestet. Die Zuteilung der Salben zu den verschiedenen Meßstellen an der Volarseite des Unterarms erfolgt zufällig. 0,012 cm^3 der Sal-

ben werden mit einer Schablone kreisförmig auf die Meßstelle aufgetragen. Der Durchmesser des Kreises zu Beginn der Versuche beträgt 5,5 mm, entsprechend einer Fläche von 0,24 cm^2. Nach 90 Minuten Versuchsdauer wird der Durchmesser des Salbenflecks erneut bestimmt (dünne Lipidfilme lassen sich durch Aufbringen von Keratinpulver $d < 0,1$ mm sichtbar machen). Der Vergleich der Grundlagen, bei denen eine Spreitung meßbar ist, erfolgt über den t-Test für gepaarte Stichproben.

2.2 Abweisungsrate

Die Messungen zur Bestimmung der Abweisungs- bzw. Rückstandsraten werden an der Volarseite des Unterarms ausgeführt (zufällige Zuteilung der Meßstellen zu den einzelnen Grundlagen). Von den 6 Versuchspersonen im Alter von 25 - 31 Jahren haben 5 normale Haut, eine trockene Haut. Es werden jeweils 20 mg der Grundlage auf einem Spatel abgewogen und 15 Sekunden gleichmäßig auf eine Hautfläche von 7 cm^2 verteilt. Nach 90 Minuten wird der auf der Haut verbliebene Salbenrest mit einem Plastikschaber abgezogen und ausgewogen. Die Rückwaage wird in % der aufgetragenen Menge angegeben (Tab. 68), die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus 2 Versuchen an einer Versuchsperson. Die wasserfreien bzw. wasserhaltigen Grundlagen werden über den t-Test für gepaarte Stichproben verglichen.

Tab. 68 : Abweisungs- bzw. Rückstandsrate der Salbengrundlagen in % der aufgetragenen Menge nach 90 Minuten
Mittelwerte aus 2 Versuchen für jede Versuchsperson
6 Versuchspersonen (VP 1,2,3,4,6 normale Haut, VP 5 trockene Haut)

Versuchsperson	1	2	3	4	5	6	$\bar{x}$
Salbengrundlagen			Abweisungsrate (%)				
VAS	85,3	47,6	60,2	82,8	68,6	56,3	66,8
PS	55,6	24,4	17,8	59,1	18,0	41,2	36,0
KS	42,0	46,4	69,7	51,6	37,5	22,2	44,9
ALK	68,6	43,3	61,9	50,2	58,8	23,1	50,9
HS	63,7	82,2	67,6	62,7	68,5	82,5	71,2
PEG	57,6	-	-	57,8	62,5	33,6	52,9
			Rückstandsrate (%)				
WALK	47,5	25,7	29,3	38,5	17,9	70,0	36,5
WHS	0,9	44,4	43,9	6,4	9,0	26,8	21,9
ME	0	60,2	41,0	2,6	0,8	4,8	18,2
PA	0	16,2	7,3	-	-	2,0	6,4
PEGW	51,7	54,0	35,2	28,5	14,5	24,4	34,7

III. Herstellungsverfahren und Hilfsstoffe

1. Herstellungsverfahren

Die Wollwachsalkoholsalbe, wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, hydrophile Salbe und wasserhaltige hydrophile Salbe werden nach der Vorschrift des DAB 8 hergestellt.

Polysynlansalbe:

Polyethylen 30 000	5,0 g
Gereinigtes Isoparaffin	95,0 g

Polyethylen 30 000 wird bei 140 - 150°C in Isoparaffin gelöst und danach in eine eisgekühlte Metallschale ausgegossen.

Mikroemulsion APV:

Ethoxilierter Cetylstearylalkohol (ca. 40 Mol Ethylenoxid)	12,0 g
Ethoxilierter Glycerinfettsäurepartialester	20,0 g
Isopropylmyristat	5,0 g
Wasser	63,0 g

Ethoxilierter Cetylstearylalkohol, ethoxilierter Glycerinfettsäurepartialester und Isopropylmyristat werden auf dem Wasserbad bei 95°C geschmolzen. Dazu wird das auf 95°C erhitzte Wasser gegeben und das entstandene Gel kaltgerührt.

Polyacrylatgel:

Polyacrylsäure	2,4 g
Diisopropanolamin	0,06 g
Propylenglykol	8,0 g

Isopropanol	43,07 g
Wasser	46,47 g

Polyacrylsäure wird in 40 g Wasser dispergiert und 20 Minuten gerührt, danach erfolgt Einarbeitung von Propylenglykol und Isopropanol. Dazu gibt man das im restlichen Wasser gelöste Diisopropanolamin und rührt das entstandene Gel nochmals.

Polyethylenglykolsalbe:

Polyethylenglykol 4000	47,5 g
Polyethylenglykol 400	47,5 g
Cetylalkohol	5,0 g

Die Substanzen werden auf dem Wasserbad geschmolzen und anschließend bis zum Erkalten gerührt. Im Fall der wasserhaltigen Polyethylenglykolsalbe werden danach 10% Wasser eingearbeitet.

Die Einarbeitung des Nicotinsäurebenzylesters (E. Merck, Darmstadt) erfolgt rezepturmäßig mit Fantaschale und Pistill. Es wird zunächst die jeweilige Salbe mit der höchsten benötigten Arzneistoffkonzentration hergestellt. Dazu wird der Nicotinsäurebenzylester mit wenig Salbengrundlage angerieben und die restliche Grundlage in kleinen Anteilen zugegeben, zwischen jedem Verarbeitungsschritt wird abgeschabt und intensiv gerührt. Die übrigen Konzentrationen werden durch Verdünnen der Stammsalbe mit arzneistofffreier Grundlage in gleicher Weise hergestellt. Die Aufbewahrung der Salben erfolgt unter Lichtschutz im Kühlschrank.

2. Hilfsstoffe

Tab. 69: Verwendete Hilfsstoffe und Hersteller

Cetylalkohol (Lorcol C 16, chem. rein),
Henkel-Dehydag, Düsseldorf

Ethoxilierter Cetylstearylalkohol (ca. 40 Mol Ethylenoxid, Eumulgin B 3),
Henkel-Dehydag, Düsseldorf

Diisopropanolamin,
Merck-Schuchardt, Hohenbrunn bei München

Ethoxilierter Glycerinfettsäurepartialester (Cetiol HE),
Henkel-Dehydag, Düsseldorf

Isoparaffin, gereinigt (Polysynlan),
Nichiyu Chemical Co., LTD, Tokyo, Japan

Isopropylmyristat,
Henkel-Dehydag, Düsseldorf

Polyacrylsäure (Carbopol 940),
B.F. Goodrich Chemical Comp. Cleveland, Ohio, USA

Polyethylen 30 000 (Lupolen 1814 H),
Hoechst, Frankfurt/Main

Polyethylenglykol 400 bzw. 4000,
Hoechst, Frankfurt/Main

1,2-Propylenglykol,
E. Merck, Darmstadt

D ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird der Einfluß unterschiedlicher Salbengrundlagen auf die Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen aus Lösungssalben am Beispiel von Nicotinsäurebenzylester untersucht. Dabei finden Vehikel mit verschiedenartigem Gelaufbau Berücksichtigung: Lipophile Gele (Vaseline, Polysynlansalbe, Wachssalbe), Absorptionsgrundlagen (Wollwachsalkoholsalbe, hydrophile Salbe), Emulsionsgrundlagen (wasserhaltige Wollwachsalkoholsalbe, wasserhaltige hydrophile Salbe), Mikroemulsion APV, Hydrogele (Polyacrylatgel, Salhumin Gel) und hydrophile Gele (Polyethylenglykolsalbe, wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe).

Da die üblichen Meßmethoden zur Bestimmung der relativen Bioverfügbarkeit (Verlauf der Blutspiegel - bzw. Ausscheidungs-Zeit-Kurven) bei lokaler Wirkung problematisch sind, werden zu ihrer Ermittlung pharmakodynamische Effekte des Nicotinsäurebenzylesters herangezogen. Dabei lassen sich aus Messungen der Hautrötung und der Temperaturerhöhung auf der Haut verschiedene Wirksamkeitsparameter entwickeln und hinsichtlich ihrer Eignung zur quantitativen Auswertung vehikelbedingter Wirksamkeitsunterschiede bewerten.

Über physikalisch-chemische Untersuchungen zum Freisetzungs-Verteilungs- und Lösungsverhalten des Esters in den verschiedenen Grundlagen und zum Verhalten der Vehikel auf der Haut ergibt sich die Möglichkeit, gefundene Wirksamkeitsunterschiede zu begründen.

Im einzelnen können damit für die Entwicklung von Lösungssalben unter biopharmazeutischen Gesichtspunkten einerseits und für die Bestimmung der relativen Bioverfügbarkeit von Zubereitungen über unterschiedliche Wirksamkeit andererseits folgende Gesetzmäßigkeiten abgeleitet werden:

1. Wirksamkeitsvergleiche zur Bestimmung der relativen Bioverfügbarkeit unterschiedlicher Arzneiformen bei einer Konzentration sind problematisch; zur umfassenden Beurteilung verschiedener Zubereitungen ist die Kenntnis der entsprechenden Dosis-Wirkungs-Kurven notwendig. Dabei werden intensitätsbezogene, dauerbezogene sowie intensitäts/dauerbezogene Wirksamkeitsparameter unterschieden.

2. Aus dem Verlauf der Wirksamkeits-Zeit-Kurven läßt sich bei ausreichend langer Belassung der Salben auf der Haut schließen, daß der gesamte applizierte Arzneistoff aufgenommen werden kann (Ausmaß der Bioverfügbarkeit = 100%). Unterschiede bei den einzelnen Salben sind daher nur auf Beeinflussung der Geschwindigkeit der Arzneistoffaufnahme zurückzuführen. Damit sind vehikelspezifische Effekte sowohl bei der Intensität als auch der Dauer der Wirkung zu erwarten.

3. Als Meßparameter für die Wirksamkeit des Nicotinsäurebenzylesters in den verschiedenen Grundlagen eignen sich einerseits die Latenzzeit bis zum Eintritt der Hautrötung sowie die Dauer und die Flächenausbreitung der Rötung. Andererseits lassen sich an Hand der Temperaturerhöhung auf der Haut die maximale Temperaturerhöhung, die Zeit

bis zur maximalen Temperaturerhöhung und die Fläche unter der Temperaturzunahme-Zeit-Kurve heranziehen.

4. Alle Parameter mit Ausnahme der Zeit bis zur maximalen Temperaturerhöhung sind von der eingesetzten Arzneistoffkonzentration abhängig. Dabei ergeben sich nur für die intensitätsbezogenen Parameter (maximale Temperaturerhöhung und Flächenausbreitung der Rötung), sigmoide Dosis-Wirkungs-Kurven. Die Esterwirkung unterliegt dabei deutlich inter- und intraindividuellen Schwankungen. Diese sind für die Temperaturparameter i.a. niedriger als für die Rötungsparameter. Insgesamt aber ergeben sich gleiche qualitative Bewertungen der Salben.

5. Zur Ermittlung der relativen intensitätsbezogenen Bioverfügbarkeit lassen sich aus den sigmoiden Dosis-Wirkungs-Kurven sowohl die Dosen,die zu einer bestimmten Wirkung führen (z.B. die ED_{50}),wie auch die Wirkungsdifferenzen von Test- und Standardzubereitung heranziehen. Dabei kann der Einfluß des Vehikels im Vergleich zu einer Standardzubereitung quantitativ und unabhängig vom Arzneistoff über den relativen intensitätsbezogenen Bioverfügbarkeitsfaktor f_I erfaßt werden. Er charakterisiert die horizontale Verschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve durch den Einfluß der Zubereitung. Mit Hilfe von dauer- und intensitäts/dauerbezogenen Parametern lassen sich analoge Bioverfügbarkeitsfaktoren ableiten. Damit können auch einfach meßbare Parameter wie die Latenzzeit zum Vergleich herangezogen werden.

6. Aus den In-vivo-Untersuchungen ergeben sich für Hydrogele (z.B. Polyacrylatgel) eine starke, für Absorptions- und Emulsionsgrundlagen (z.B. hydrophile Salbe und wasserhaltige hydrophile Salbe) sowie lipophile Gele (z.B. Vaseline) eine mittlere und für Mikroemulsion sowie die hydrophilen Gele (Polyethylenglykolsalbe und wasserhaltige Polyethylenglykolsalbe) eine schwache Wirksamkeit. Die entsprechenden relativen Bioverfügbarkeitsfaktoren sind für die stark wirksamen Hydrogele etwa um den Faktor 5-10 höher als für Vaseline (Standard) und betragen für die schwach wirksamen Grundlagen nur etwa ein Zehntel des Standards.

7. Die Beeinflussung der Wirksamkeit von Lösungssalben ist in erster Linie auf die unterschiedliche Affinität des Wirkstoffes zu den Grundlagen zurückzuführen. Diese läßt sich durch die Sättigungslöslichkeiten und das Verteilungsverhalten zwischen Keratin und Grundlage charakterisieren. Dabei ergeben sich wichtige Gesichtspunkte für die Entwicklung bzw. Optimierung von Lösungssalben: Die Wirksamkeiten der Salben verhalten sich umgekehrt proportional zur Löslichkeit des Wirkstoffes in den jeweiligen Grundlagen. Dementsprechend erfolgt mit steigendem Verteilungskoeffizienten Keratin/Vehikel eine Erhöhung der Wirksamkeit.

8. Aus der Löslichkeit des Arzneistoffes Nicotinsäurebenzylester in den flüssigen Salbenbestandteilen läßt sich seine

Löslichkeit in der Gesamtgrundlage abschätzen. Genauer ist die Bestimmung der Löslichkeit im Vehikel selbst über den Verteilungskoeffizienten des Arzneistoffes zwischen dem Vehikel und einer zweiten, mit diesem nicht mischbaren, flüssigen Phase mit bekannter Löslichkeit für den Arzneistoff.

9. Das Verteilungsverhalten des Esters zwischen Keratin und flüssigen Salbenbestandteilen ist deutlich von der eingesetzten flüssigen Phase abhängig. Dabei ergibt sich entsprechend den Sättigungslöslichkeiten des Esters bei relativ niedriger Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln (z.B. Wasser, Hydrogele) oder apolaren Lösungsmitteln (z.B. Paraffin) ein hoher Verteilungskoeffizient und umgekehrt bei guter Löslichkeit des Esters in der flüssigen Phase (z.B. Polyethylenglykolsalben) ein niedriger Verteilungskoeffizient.

10. Die Freisetzung des Nicotinsäurebenzylesters aus den Grundlagen erfolgt in allen Fällen so schnell, daß dadurch keine Beeinflussung der Wirksamkeit bzw. Bioverfügbarkeit zu verzeichnen ist. Damit stellt die Penetration des Arzneistoffes durch das Stratum corneum den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt dar. Das Freisetzungsverhalten der Grundlagen ist allerdings unterschiedlich, bedingt durch den verschiedenartigen Gelaufbau. So zeigen Polyacrylatgel und Polysynlansalbe eine schnellere Freigabe und dementsprechend auch einen höheren effektiven Diffusionskoeffizienten für

den Ester als die übrigen Grundlagen. Für das Diffusionsverhalten des Esters ist dabei die Viskosität der flüssigen Phase und deren prozentualer Anteil am Gel von Bedeutung. Die Konsistenz der Gesamtgrundlage zeigt keinen Einfluß.

11. Die untersuchten Grundlagen spreiten auf der Haut unterschiedlich: Gutes Spreitungsvermögen zeigt z.B. Polysynlansalbe, während bei anderen Vehikeln wie Polyacrylatgel überhaupt keine Spreitung meßbar ist. Das Spreitungsvermögen der Grundlagen steht dabei in engem Zusammenhang mit der Gelfestigkeit, charakterisiert durch die Blutungszahl. Schmelzverhalten und Quasiviskositäten der Grundlagen sowie die Oberflächenspannung der flüssigen Anteile sind von untergeordneter Bedeutung.

12. Das Eindringvermögen der Grundlagen in die Haut ist unterschiedlich. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen dringen z.B. von Vaseline nur etwa 30% der aufgetragenen Salbenmenge in das Stratum corneum ein, im Fall von Polysynlansalbe mehr als doppelt so viel. Zwischen Spreitung und Eindringvermögen besteht kein direkter Zusammenhang. Beide können die Wirksamkeit einer Zubereitung modifizieren.

13. Bei den wasserhaltigen Grundlagen ist eine Hydratation des Stratum corneum in Betracht zu ziehen, da die Wirksamkeit dieser Salben verbessert ist. Desgleichen können Veränderungen der Grundlagen auf der Haut (Abdunstung flüssiger Bestandteile) die Wirksamkeit nachhaltig beeinflussen

(verbesserte Wirksamkeit bei Polyacrylatgel). Die Bedeutung derartiger spezieller Grundlageneffekte für die Wirksamkeit ist daher im Einzelfall zu überprüfen.

E LITERATURVERZEICHNIS

(1) Albery, W.J., J. Hadgraft, J.Pharm.Pharmakol. 31, 140 (1979).

(2) Anderson, R.A., M.S. Roberts, Austral.J.Pharm.Sci. NS 3, 75 (1974).

(3) Asche, H., Fette, Seifen, Anstrichm. 81, 370 (1979).

(4) Aschoff, J., B. Günther, K. Kramer "Energiehaushalt und Temperaturregulation", Urban & Schwarzenberg Verlag, München 1971 S. 53 .

(5) Baden, H.P., L.D. Lee, J. Kubilus, J.Soc.Cosmet.Chem. 27, 433 (1976).

(6) Barr, W.H., Am.J.Pharm.Educ. 32, 958 (1968).

(7) Barret, C.W., J.W. Hadgraft, I.Sarkany, J.Pharm. Pharmacol. 16, 104 (1976).

(8) Benninger, A., Dissertation, Saarbrücken, 1977.

(9) Bergmann, E., G. Heidelmann, P. Thiele, Z.f.d.ges. Inn.Med. 8, 102 (1953).

(10) Böttger, E., E. Koch, H. Tronnier, Berufsdermatosen 25, 53 (1977).

(11) Brdicka, R. "Grundlagen der physikalischen Chemie" VEB Verlag der Wissenschaften, Berlin 1977.

(12) Breit, R., Hautarzt 24, 431 (1973).

(13) Breit, R., A.M. Kligman: Measurement of erythemal and pigmentary responses to UV-radiation of different spectral qualities. In "The biologic effects of UV-radiation", Pergamon Press, Oxford, 1969.

(14) Breuer, M.M., J.Soc.Cosmet.Chem. 30,41 (1979).

(15) Brunner, B., Dissertation, Zürich, 1971.

(16) Cavalli-Sforza, L., Biometrie, Fischer-Verlag, Stuttgart,1974.

(17) Chenaux, G.: Experimentelle Anordnung zur Hauttemperaturmessung bei Frischoperierten. In "Die posttraumat. Entzündung" Lindner, J. (Hrsg.), H. Huber Verlag, Bern, 1967.

(18) Coldman, M.F., B.J. Poulsen, T.Higuchi,J.Pharm.Sci. 58, 1098 (1969).

(19) DFG-Einheitsmethoden C - IV 2 b (52).

(20) Dittmar,W., H.-M. Kellner,W.Petri, W.H. Wagner, Resorption von Arzneistoffen von Haut und Schleimhaut. In "Bioverfügbarkeit von Arzneimitteln", Rietbrock, N., B. Schneiders (Hrsg.), G. Fischer Verlag, Stuttgart 1979.

(21) Dost, F.H., "Grundlagen der Pharmakokinetik". Thieme Verlag, Stuttgart 1968 .

(22) Eckert, Th., W.A. Cramer, Pharm. i.u.Z. 1, 117 (1972).

(23) Emden, J., H. Schäfer, G. Stüttgen, Arch.Derm.Forsch. 241, 353 (1971).

(24) Flynn, G.L., T.J. Roseman, J.Pharm.Sci. 60, 1788 (1971).

(25) Flynn, G.L., S.H. Yalkowsky, T.J. Roseman, J.Pharm. Sci. 63, 479 (1974).

(26) Fountain, R.B., B.S. Baker, J.W. Hadgraft, I.Sarkany, Brit.J.Derm.81, 202 (1969).

(27) Friberg, S.: Emulsion Stability. In "Food Emulsions", S. Friberg (Hrsg.), Marcel Dekker Verlag, New York, 1976.

(28) Friberg, S., L.Larsson, J. Pharm.Sci. 64, 823 (1975).

(29) Führer, C., APV-Kurs Dermatika IV, Mainz 1977.

(30) Garrett, E.R., in "Workshop on Basic Pharmacokinetics and Biopharmaceutics", Hahnenklee, 1977.

(31) Goldstein, A., L.Aranow, S.M. Kalman, Principles of Drug Actions: The Basis of Pharmacology, J. Wiley & Sons , New York 1974.

(32) Grainer, J.P., Clin. Trials J. 8, 55 (1971).

(33) Grasso, P., J.Soc.Cosmet.Chem. 22, 523 (1971).

(34) Grasso, P., A.B.G. Landsdown, J.Soc.Cosmet.Chem. 23, 481 (1972).

(35) Hadgraft, J.W., J.Mond.Pharm. 3, 309 (1967).

(36) Hadgraft, J.W., C.W. Barret, I. Sarkany, Scientia Pharmazeutica II, 331, Prag 1967.

(37) Hadgraft, J., J.W. Hadgraft, I. Sarkany, J.Pharm. Pharmac. 25, Suppl., 122 (1973).

(38) Hafner, D., E. Heinen, E. Noack, Arzneim.-Forsch. 27, 1871 (1977).

(39) Halprin, K.M., Brit. J. Dermat. 86, 14 (1972).

(40) Hanak, Th., J. Afkham, Therapiewoche 28, 7447 (1978).

(41) Harvey, S.C., Drug Absorption, Action and Disposition in J.E. Hoover (Hrsg.) Remingtons Pharmaceutical Sciences Mack Publ.Comp., Easton 1975.

(42) Heite, H.J., G. Weber, Arch.klin.u.exp.Dermatol. 204, 327 (1957).

(43) Higuchi, T., J.Soc.Cosmet.Chem. 11, 85 (1960).

(44) Higuchi, W.I., J.Pharm.Sci. 61, 802 (1962).

(45) Horhota, S.T., H.-L. Fung, J.Pharm.Sci. 67, 1345 (1978).

(45a) Howard, S.A., M.A. Farver, A. Suzuki, W.I., Higuchi, J.Pharm.Sci. 58, 1325 (1969).

(46) Hüttenrauch, R., Pharmazie 25, 169 (1970).

(47) Hüttenrauch, R., S. Fricke Pharmazie 34, 437 (1979).

(48) Idson, B., J.Soc.Cosmet.Chem. 24, 197 (1973).

(49) Idson, B., J.Pharm.Sci. 64, 901 (1975).

(50) Jakobi, O., Parfüm. und Kosmet. 39, 773 (1958).

(51) Katz, M., B.J. Poulsen: Absorption of Drugs through the Skin. In"Handb. d. exp. Pharmakol.", Vol. XXVIII/1, Hrsg. B.B. Brodie, J.R. Gillette, Springer Verlag, Berlin 1971.

(52) Katz, M., B.J. Poulsen, J.Soc.Cosmet.Chem. 23, 565 (1972).

(53) Keymer, R. Pharm.Ind. 32, 577 (1970).

(54) Krog, N. Fette, Seifen, Anstrichm. 77, 267 (1975).

(55) Levy, G., Clin.Pharmacol. and Therap. 7, 362 (1966).

(56) Levy, G. Pharmacology 8, 33 (1972).

(57) Lien, E.J., G.L. Tong, J.Soc.Cosmet.Chem. 24, 371 (1973).

(58) Lippold, B.C., Dissertation, München, 1969.

(59) Lippold, B.C., Pharm.Ind. 38, 201 (1976).

(60) Lippold, B.C. APV-Kurs Biopharmazeutische Aspekte peroraler Arzneiformen, München 1976.

(60a) Lippold, B.C., G.F. Schneider, Arzneim.Forsch. 25, 843 (1975).

(61) Lippold, B.C., B.H. Lippold, G.B. Sgoll,Pharm.Ind. in Druck.

(62) Loth, H., A. Holla-Benninger, Pharm.Ind. 40, 256 (1978).

(63) Loth, H., A. Holla-Benninger, M. Hailer, Pharm.Ind. 41, 789 (1979).

(64) Mansel-Jones, D., T. Taylor, E. Doyle, L.F. Chasseaud, A. Darragh, D.A. O'Kelly, H. Over, J.clin. Pharmacol. 18, 544 (1978).

(65) Münzel, K.,Pharm.Acta Helv. 28 , 320 (1953).

(66) Neuwald, F., Fette, Seifen, Anstrichm. 76, 447 (1974).

(67) Orfanos, C.E. "Feinstrukturelle Morphologie und Histopathologie der verhornenden Epidermis", Thieme Verlag, Stuttgart 1974 .

(68) Ostrenga, J., C. Steinmetz, B.J. Poulsen, J.Pharm.Sci. 60, 1175 (1971).

(69) Place, A., J.G. Velazques, K.H. Burdick,Arch.Derm. 101, 531 (1970).

(70) Poulsen, B.J., Adv. Biol.Skin. 12, 495 (1972).

(71) Poulsen, B.J., E. Young, V. Coquilla, M. Katz, J.Pharm. Sci. 57, 928 (1968).

(72) Pratzel, H.,Arch.Derm.Forsch. 248, 219 (1973).

(73) Rabsner, M., Dissertation, München, 1977.

(74) Ritschel, W.A.: Absorptionsgeschwindigkeit und Ausmaß der Absorption als Kriterien der Bioverfügbarkeit. In "Bioverfügbarkeit von Arzneimitteln", Rietbrock, N., B. Schneiders (Hrsg.),G. Fischer Verlag, Stuttgart 1979.

(75) Ritschel, W.A., E.G. Siegel, P.E. Ring, Arzneim.-Forsch. 24, 907 (1974).

(76) Roberts, M.S., R.A. Anderson, J. Pharm.Parmac. 27, 599 (1974).

(77) Sachs, L., "Angewandte Statistik" Springer-Verlag, Berlin 1978.

(78) Scheuplein, R.J., J. Invest.Dermatol. 45, 334 (1965).

(79) Scheuplein, R.J., J. Invest.Dermatol. 48, 79 (1967).

(80) Scheuplein, R.J., I.H. Blank, Physiol.Rev. 51, 714 (1971).

(81) Scheuplein, R.J., L. Ross,J.Soc.Cosmet.Chem. 21, 853 (1970).

(82) Schmitt, M.: Thermometrie cutanée et thermographie. In "Actualites de dermopharmacologie" IV, Thiers, H., J. Cotte (Hrsg.) C.E.D. Lyon, 1972.

(83) Schneider, H.J., Kosmetik u. Aerosole, 45, 143 (1972).

(84) Shahi, V., J.L. Zatz, J.Pharm.Sci. 67, 789 (1978).

(85) Sheth, P.R., N.H. Shah, W. Pool, J.Pharm.Sci. 66, 1567 (1977).

(86) Smolen, V.F., J.Pharmakokinet.Biopharm. 4, 337 (1976).

(87) Smolen, V.F., W.A. Weigand, J.Pharmakokinet.Biopharm. 1, 329 (1973).

(88) Speiser, P.P., B.H. Spang-Brunner, J.Pharm.Pharmac. 28, 23 (1976).

(89) Stüttgen, G., H. Schäfer, Funktionelle Dermatologie, Springer Verlag, Berlin 1974.

(90) Tronnier, H., Strahlentherapie 104, 3 (1957).

(91) Tronnier,H., Berufsdermatosen 5 (1964).

(92) Tronnier, H.: Pharmakotherapie d. Haut und ihrer Anhangsgebilde. In H.P.Kümmerle, E.R. Garrett, K.H. Spitzy "Klinische Pharmakologie und Pharmakotherapie", Urban und Schwarzenbeck, München 1971, S. 368 ff.

(93) Ullmann, E., Mittg. Deutsch.Pharm.Ges. 37, 89 (1967).

(94) Ullmann, E.,APV-Inf. 23, 137 (1977).

(95) Vickers, C.F.H.,Trans.Derm.Soc. 59, 10 (1973).

(96) Wepierre, J., J.P.Marty, Sci.Techn.pharm. 8, 171 (1979).

(97) WHO-Richtlinien für biopharmazeutische Studien am Menschen, Technical Report, Series No. 536 (1974).

(98) Wüster, M., B.C. Lippold, A. Herz, in Druck.

(99) Yalkowsky, S.H., G.L. Flynn, J.Pharm.Sci. 63, 1276 (1974).

(100) Zathurecky, L.,Pharmazie 27, 686 (1972).

(101) Zathurecky, L., H. Oelschläger, Dtsch.Apo.Ztg. 111, 420 (1971).

(102) Zesch, A.,Fette, Seifen,Anstrichm. 81, 43 (1979).

LEBENSLAUF

Andreas Teubner	geboren am 21.6.1947 in Coburg als Sohn des Bundesbahnamtsrates Erich Teubner und seiner Ehefrau Liane, geb. Schober. Seit 1974 verheiratet mit Karoline Teubner, geb. Engelhardt; 2 Kinder.
Schulbildung:	1953 - 1958 Volksschule Gemünden am Main; 1959 - 1968 Siebold-Gymnasium, Würzburg
Reifeprüfung:	23.7.1968 in Würzburg
Berufsausbildung:	
Praktikantenzeit:	1968 - 1970 Königstor-Apotheke, Nürnberg, Apotheker W. Starke
Pharmazeutisches Vorexamen:	17.9.1970 in Nürnberg
Studium der Pharmazie:	WS 1970/71 - SS 1971 Phil.-theol. Hochschule Passau; WS 1971/72 - SS 1973 Universität München
Pharmazeutische Prüfung:	14.11.1973 in München
Approbation als Apotheker:	21.11.1973
Wehrdienst:	1974 - 1975 Stabsapotheker, Marinedivision Ostsee in Kiel

Wissenschaftliche Arbeit:	Juni 1975 - April 1980 unter Anleitung von Herrn Prof.Dr.B.C. Lippold am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München sowie am Institut für Pharm. Technologie der Universität Düsseldorf. Vom 1.2.1977- 31.5.1978 Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle. Seit Juni 1978 wissenschaftlicher Angestellter.

FOTODRUCK J. MAINZ — Telefon: (02 41) 2 73 05
Neupforte 13, Nähe Markt, 5100 Aachen